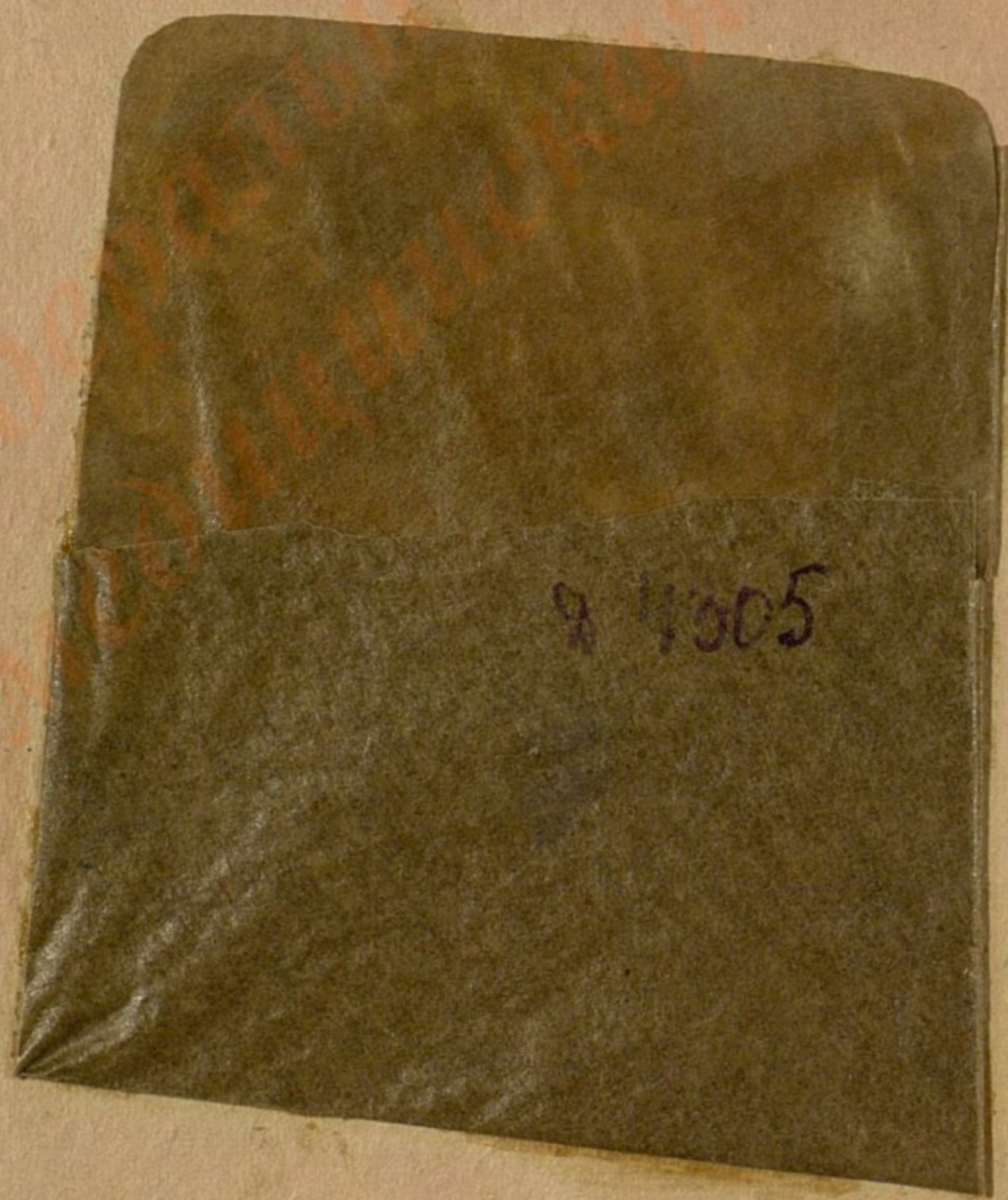


Д 40
239

Тарусов Б. Н.

Кинетика первичной вос-
палительной реакции.



26958

Д 40

232

Марусов, Борис Николаевич

"Книжка первичной воспитательной
работы" —

Докторск. дисерт.

Защита 15/II-40 г.

ВУДМ. — Утвержд. доктором
Естественнонаучных наук ИАН
15/XI-41 г. № 37.

(ИАН) 25/IV-49
МЗ

305
20

Предисловие

В течение последних десятилетий физическая химия широко проникает в различные области биологии и медицины. Простой перенос классических методов ее открыл новые широкие возможности анализа многих патологических явлений. Достаточно вспомнить хотя бы исключительные результаты, полученные Шаде при изучении воспалительного процесса, которые легли в основу современной теории воспаления. Физико-химические методы определения pH, вязкости, поверхностного натяжения и т.д. завоевали себе прочное место, как в научно-исследовательской работе патолога, так и в практике клинических лабораторий.

Однако, несмотря на большие успехи, достигнутые физической химией в медицине, область доступного для ее методов анализа оказывается очень ограниченной, так как общепринятые методы не пригодны для изучения глубоких патологических процессов. Главным местом разворачивания всевозможных патологических и физиологических процессов является клеточно-протоплазма клеток. Обычные же методы физической химии пригодны только для жидкостей организма. Поэтому так называемая молекулярная патология является по существу физической химией плазмы крови, мочи, спинно-мозговой жидкости. Классические работы, например, Шаде и его учеников по воспалению могли быть проведены только на жидких экссудатах и поэтому его исследования коснулись только тех стадий этого важного процесса, на которых образуется достаточное для анализа количество жидкости.

Физикохимические исследования жидкостей организма, конечно, имеют большое значение, так как вещества образующиеся в процессе, в конечном счете остро переходят в кровь и

физико-химические изменения, наблюдаемые в жидкостях организ-
ма являются отражением изменений, происходящих в **клетках**. Одна-
ко, они ни в коей мере не позволяют сделать какие либо выводы
о ~~различиях~~ тех процессах, которые совершаются внутри клеток.
Дальнейший шаг вперед должен быть сделан в направлении прямо-
го анализа тех процессов, которые происходят непосредствен-
но в клетках организма.

Протоплазма клетки не доступна для обычных приемов физико-хими-
ческого анализа, вследствие **ее** микроскопических размеров, а
также в силу того, что она очень чувствительна ко всякого ро-
да воздействиям. Измерительные ~~эти~~ **приемы** сами влияют на нее
вызывая раздражение и переход в ненормальное состояние и даже
отмирание, **а это** сопровождается сильными химическими
изменениями в протоплазме клеток, на фоне которых совершенно
стусшевываются **истинные** закономерности.

Стремление изучить физико-химические процессы, протекающие в
клетках привело к возникновению новой отрасли - целлюлярной
физической химии. Целлюлярная физико-химия переживает еще мла-
денческий период своего развития и встречает на пути своем
значительные трудности, так как для ее задач необходимо пере-
страивать существующие методы и изыскивать принципиально под-
ходы. Как правило, методы, применяемые для изучения протоплаз-
мы клеток очень сложны и кропотливы. Поэтому имеющиеся в нас-
тоящее время в литературе определения внутриклеточного Рн,
вязкости и т.д. производятся только на немногих крупных клет-
ках растений и яйцах низших животных.

Среди методов, применяемых в биологии, особое положение занима-
ет метод электропроводности. Измерения электропроводности сыг-
рали большую и почетную роль в развитии физической химии. При

помощи этого метода был разрешен ряд крупных теоретических проблем теории растворов, строения вещества и т.д. Однако, попытки применить метод электропроводности для разрешения некоторых биологических задач натолкнулись на ряд серьезных затруднений. Несмотря на высокое содержание солей электропроводность клеток /при измерении постоянным током и токами звуковой частоты/ очень низка. По своему поведению живые клетки приближаются не к гомогенным растворам а к гетерогенным диэлектрикам. Поэтому классический аппарат электрохимии оказался неприменимым для интерпретации, тех результатов, которые получаются при измерении электропроводности биологических объектов. С другой стороны, нельзя ставить знак равенства между гетерогенным диэлектриком и живой клеткой. Попытки объяснить электропроводность живых клеток мембраной, ее проницаемостью, встречают не меньшие трудности. В связи с этим метод электропроводности стал применяться не как физико-химический метод, а как метод биологический для улавливания суммарных физиологических изменений.

Работая в течении ряда лет над изучением механизма электропроводности живых клеток, мы пришли к заключению, что изменения электропроводности могут быть связаны с определенными физико-химическими изменениями в клетках. На ряде нижеприведенных примеров мы покажем, что изменения проводимости являются результатом наложения двух процессов: изменения тургора клеток /набухание/ а - изменения количества свободных ионов в протоплазме и в гораздо меньшей

мере связаны с изменениями проницаемости, как это считали многие / *Остергаут*, Рубинштейн/.

Метод электропроводности обладает большими преимуществами по сравнению с другими методами, т.к., при известных условиях он сам не вносит в клетку никаких изменений. Предлагая метод электропроводности для изучения физико-химических изменений в клетках при патологических явлениях, мы задались целью показать, что для вскрытия механизма цитоплазматических патологических процессов существенным является выяснение количественно, динамики развития данного процесса. Так называемая, кинетическая характеристика процесса позволяет установить идентичность или различие, часто внешне сходных процессов. Несмотря на сложность явлений, протекающих в живых клетках, эта задача далеко не является безнадежной. Тридцать лет тому назад известный классик физической химии Св. Аррениус установил, что в ряде случаев скорости сложных биохимических и биологических процессов выражаются очень простыми количественными закономерностями, позволяющими точно установить порядок той химической реакции, которая лежит в их основе. Так, например, ему удалось показать, что процесс переваривания пищи в желудке подчиняется закону мономолекулярных реакций. В такую же простую закономерность укладывается скорость действия тетанолизина, вибриолизина и др. Помимо величин, характеризующих скорость данного процесса, очень большую роль в анализе жизненных процессов играет температурная характеристика т.е. то изменение ско-

рости реакции, которое происходит при увеличении или уменьшении температуры. Наглядным выражением этой зависимости является величина ^М из уравнения Аррениуса для скорости необратимой мономолекулярной реакции в зависимости от температуры.

$$K = K_0 e^{\frac{M}{T} \left(\frac{T - T_0}{T_1 T_0} \right)}$$

Подход, предложенный Аррениусом, получил в последнее время некоторое развитие в работах американских исследователей / Crozier /. Изучая температурную зависимость для целого ряда биологических процессов / движение ресничек, скорости развития /, Крозье установил, что в ряде случаев количественные закономерности очень просты и могут быть выражены простым логарифмическим уравнением мономолекулярной реакции. Константы, характеризующие эти процессы, позволяют нам решать вопрос о природе процесса и об идентичности данного явления с другими. Возникает конечно, естественно вопрос почему сложное биологическое явление, являющееся безусловно целью физических и химических превращений выражается простыми количественными соотношениями? Это можно представить себе наглядно следующим образом: если в клетке протекает ряд последовательных химических превращений, при которых начальное вещество А переходит в В-С-Д-Е К, то количество конечного образующегося вещества будет зависеть от скорости, медленнее всего протекающей реакции. Если мы предположить, что наибольшее время в нашей цепи требуется для образования продукта Д, то измеряя какое нибудь физико-химическое изменение, связанное с вышеуказанным циклом мы будем получать кинетику, свой-

ственную именно этой элементарной реакции /Д/.

Работы Крозье и его учеников посвящены исключительно анализу процессов, происходящих у низших животных / движения ресничек, возбуждение, мышечное движение /.

Во всех исследованиях, количественный учет процесса производится физиологическими методами.

Метод электропроводности позволяет точнее учитывать динамику изменения непосредственно физико-химических свойств протоплазмы. Поэтому при помощи его можно подойти к анализу ранее недоступных процессов, происходящих в клетках высших организмов.

В частности, большие перспективы этот метод должен иметь в области изучения и классификации *патологических* процессов.

Для определения принципиальной возможности применения этого метода к патологическим процессам, мы решили проанализировать при помощи этого подхода действие воспалительных агентов.

При помощи тех приемов, которые мы применили, можно улавливать очень тонкие физико-химические изменения в клетках.

Приведенные нами примеры показывают, что действие *нагр.* воспалительных агентов может быть охарактеризовано простыми количественными показателями.

Мы полагаем, что разработанный нами количественный подход к изучению кинетики клеточных процессов может разрешить ряд задач патологии.

В современной литературе, например, как мы уже указывали *ниже*, оживленно дебатруется вопрос о том, какие эндогенные продукты вызывают воспалительный процесс.

Выделяя из воспаленных клеток различные вещества, можно установить по кинетике их действия на живую клетку идентичны ли они предполагаемым возбудителям воспаления (гистамин, полипептид Менкина и т.д.)

Бальнеология пользуется широко для получения лечебного эффекта грязями, производными нефти, торфа и т.д.

Решить вопрос, какие из компонентов этих сложных смесей оказываются наиболее эффективными, на клиническом материале, выяснить очень трудно. Решение же этого вопроса очень важно, т.к. от этого зависит стандартизация процедур, режим хранения, оценка качества природных месторождений и т.д.

Применив впервые наш метод электропроводности в упрощенном виде к лечебной грязи Одесских лиманов, нам удалось установить, что те изменения, которые получаются на коже при действии грязи, полностью воспроизводятся той фракцией ее, которая содержит аминоксоединения..

В результате нашей работы был изменен режим грязевых процедур в сторону снижения температуры, изменения сроков и повышена эффективность. Влияние нашей работы на клиническое использование грязи было неоднократно отмечено на съездах по грязелечению и в статьях проф. Налубандова.

Применив наш метод к нафтолану, применяющемуся в лечебной практике в Азербайджане, удалось установить, что физико-химический эффект, получающийся от нафтолана воспроизводится одной из его фракций растворимой в воде.

Количественный подход может также помочь решить вопрос имеется ли специфичность в действии различных биологических факторов, фармакологических веществ и т.д.

В в е д е н и е.

Физическая химия дала очень много материала для понимания воспалительного процесса, однако до сих пор мы очень мало осведомлены о тех физико-химических изменениях, которые происходят в клетках в начальной стадии этого процесса.

Причина этого кроется в том, что живая клетка, за редким исключением, недоступна для обычных физико-химических методов исследования. Классические работы Шаде и его учеников, вписавшие в науку новую главу о физико-химии воспаления, посвящены только той стадии этого процесса, при которой в тканях появляется достаточное для анализа количество экссудата, т.е., в лучшем случае, через сутки после начала. Отсутствие данных о процессах, протекающих в начальных стадиях, является большим минусом для построения теории этого важного и распространенного патологического процесса. Безусловно, развитие воспалительного процесса должно вызываться какими-то веществами, выделяемыми клетками в результате первичной воспалительной реакции.

В настоящее время мы не располагаем данными о характере этой первичной реакции.

В современной литературе нет также единства мнений о природе тех веществ, которые выделяются клетками, а также их удельном весе в отдельных этапах воспалительного процесса.

В основном почти все исследователи, за редким исключением

Вряд-ли могут играть решающую роль в начальных стадиях воспаления, т.к. количество их в начале будет очень незначительным, они не смогут преодолеть буферной способности тканевой жидкости и вызвать реакцию со стороны капилляров. Поиски этих авторов направлены на отыскание более активного вещества, которое выделялось бы клетками и в ничтожных концентрациях, могло вызвать расширение капилляров и повышение их проницаемости. Изучая действие экстрактов, полученных из тканей, подвергавшихся действию различных раздражителей /холод, тепло, электрический ток/. *Lewis*⁶ обнаружил, что они вызывают реакцию расширения капилляров, т.е. содержат какое-то вещество, которое может, по его мнению, быть причиной воспаления. Гипотетическое вещество, которое выделяется раздраженными клетками *Левис* назвал *H* субстанцией. *H* субстанция является продуктом первичной воспалительной реакции. *Левис* полагает, что по природе своей это гистамин, который содержится в клетке в недиффузibelной форме и освобождается при раздражении.

В пользу своей точки зрения *Левис* приводил ряд экспериментов, в которых действие экстрактов и гистамина оказывалось идентичным. Соображения *Левиса* вызвали значительный отклик в современной литературе по воспалению. В пользу этой теории как будто говорит ряд конкретных фактов. Гистамин, действительно, имеется в тканях в количестве 22-24 мкг. на кило, как это обнаружил *Hammer*^{7,10}. Гистамин вызывает резкую реакцию со стороны клеток и стенок капилляров. *Kling*⁸ обнаружил, что он сам по себе при аппликации на кожу вызывает местное повышение температуры на 2-3°, т.е. какую-то химическую реакцию. В незначительных концентрациях он вызывает хемотаксис лейкоцитов.

/Wolf⁹/.

Гистаминовая теория пользуется в настоящее время популярностью. Однако, некоторые исследователи выдвигают против нее серьезные возражения. Анализы содержания гистамина в экссудате /Menkin^{12.14}/ показывают, что далеко не всегда, даже при остром воспалении, экссудат содержит повышенную концентрацию гистамина. Количество его зачастую не превышает той нормы, которая имеется обычно в крови /нормальной/.

В настоящее время делаются попытки найти другие продукты первичной реакции, которые могли бы в равной мере вызывать увеличение проницаемости капиллярной стенки и наличие, которых можно было бы констатировать в воспалительном очаге. Среди этих попыток следует отметить работы американского исследователя Менкин ; **он** выделил и выкристаллизовал из воспалительного экссудата вещество, которое он считает причиной воспаления. Это вещество по его анализам является полипептидом в соединении с Na и Cl. Несмотря на то, что этому веществу Менкин уделяет очень много внимания, значимость его, как возбудителя воспаления, [redacted] сомнительна. Вещество, продуцируемое клетками, ^{не} может быть натриевым соединением, т.к. натрий в протоплазме клеток нет. Это вещество могло образоваться только на более поздних стадиях, когда уже значительное количество плазмы попадает в воспалительный очаг. Это вещество, как установлено теперь, содержится так же в крови при нормальных условиях. Удалось выделить из гнойного экссудата другого типа продукты, вызывающие такую же реакцию и следует ожидать еще исследований подобного типа.

Гнойный экссудат содержит, конечно, очень много всевозможных веществ секретируемых клетками, продуктов клеточного некроза и веществ, прошедших в воспалительный очаг извне. Среди этих веществ есть очень много таких, которые, будучи выделены в чистом виде, могут вызывать реакцию капилляров. Однако, крайне ошибочно принимать эти продукты за причину воспалительного процесса. Нельзя закрывать глаза так же на то, что многие факторы, вызывающие повышение проницаемости капилляров / инфракрасные лучи /, тем не менее не являются воспалительными агентами. С другой стороны ряд, явно воспалительных факторов (арбин, ультрафиолет) непосредственно на капилляры не действуют. Современная физико-химическая или, как ее называют, молекулярная патология не проводит четкого различия между веществами, связанными органически с клеточным воспалительным процессом и веществами, обеспечивающими развитие воспаления. Хотя уже тридцать лет тому назад *Нисблет* считал, что вещества, действующие только на капилляры, не могут считаться воспалительными агентами. Воспалительные же яды должны оказывать действие на все тканевые элементы, в частности, и безсосудистые. Вопрос о причинах воспаления чрезвычайно запутан. В патофизиологическое понятие воспаления безусловно укладываются совершенно различные физико-химические процессы. Значительную ясность в этот вопрос можно было бы внести путем физико-химического изучения первичной реакции, протекающей в клетках под действием воспалительных агентов в первые минуты и часы.

Эта реакция до сих пор не вскрыта, она лежит вне поля зрения и для изучения ее необходимо найти новые пути и методы.

которые дали бы возможность количественно учитывать кинетику воспалительной реакции. Метод должен удовлетворять двум условиям, с одной стороны, он сам по себе не должен оказывать влияние на обмен веществ, с другой стороны, при помощи его нужно улавливать вполне определенные физико-химические величины.

Единственным методом, который удовлетворяет этим требованиям, является метод электропроводности.

Этот физико-химический точный метод до сих пор не применялся для анализа процессов, протекающих в живых клетках. В руках физиологов этот метод, иногда только, играл роль индекса суммарных изменений, сопровождающих процессы возбуждения. Нам удалось показать, что при известном подходе этот метод, несмотря на сложность явлений прохождения электрического тока через живые клетки, дает результаты, которые могут интерпретироваться под физико-химическим углом зрения и служить четким показателем коллоидальных и ионных процессов в живой клетке.

Центральное место в нашем исследовании занимал вышеуказанный метод, т.к. он позволял производить измерения как на изолированных тканях, так и на целом организме.

Мы изучали реакцию воспаления на изолированных органах, лишенных кровоснабжения, а также местное воспаление

На коже

Краска in vivo

В качестве возбудителей мы взяли специфические воспалительные яды (кротоновое масло и скипидар).

АНАЛИЗ МЕТОДА.

1. Электропроводность клеток и тканей.

Попытки измерить электропроводность биологических об"ек-

тов с целью изучения баланса электролитов делались еще в конце прошлого столетия. Первые исследования, сделанные при помощи постоянного тока показали, что электропроводность тканей животных и растений, вопреки ожиданиям, очень низка. Несмотря на то, что в клетках содержится очень много электролитов.

Если изучать силу тока, проходящего через живую ткань в течение короткого времени после наложения потенциала, то оказывается, что сила изменяется во времени.

В первый момент ток дает максимальное значение и после этого быстро уменьшается до некоторой постоянной величины. Этот установившийся ток в несколько раз слабее первоначального.

Так как сила тока, согласно закона Ома, зависит от приложенного напряжения и сопротивления и так как напряжение в нашем опыте остается все время постоянным, то можно допустить что-либо, закон Ома не применим к подобным проводникам, либо в процессе прохождения тока меняется проводимость системы.

Изменение силы тока в зависимости от времени его прохождения т. наз. явление спада тока очень напоминает по характеру те кривые, которые получаются при измерении электропроводности кристаллов и гетерогенных диэлектриков. Аналогичной формы кривые спада тока получаются так же в случае, если постоянным током, при поляризующихся электродах определять электропроводность чистых растворов электролитов. Уменьшение силы тока при пропускании его через живые ткани объясняется тем, что внутри тканей в протоплазме клеток воз-

никает противоположно направленная электродвижущая сила. В растворе электролитов электродвижущая сила возникает на поверхности металлических электродов, как результат накопления около них ионов. В тканях организма это, наоборот, направленная электродвижущая сила возникает не около электродов, а в толще самой ткани. Это находит себе подтверждение в том, что любые две точки, взятые по линии пропускания тока, будучи отведены к гальванометру, показывают присутствие тока по направлению обратному первоначальному. Этот ток быстро уменьшается и падает до 0 /рис.1/. Возникновение т. наз. поляризационного тока объясняет нам, почему живые ткани как будто не подчиняются закону Ома. Отклонения от закона Ома в данном случае кажущееся, неувязка происходит от того, что возникающий поляризационный ток уменьшает общее напряжение. Закон Ома в данном случае следовало бы изобразить в следующем виде

$$\mathcal{Y} = \frac{V-P}{R}$$

где P встречная электродвижущая сила.

Внутри ткани при этом происходит накопление электричества - образование заряда.

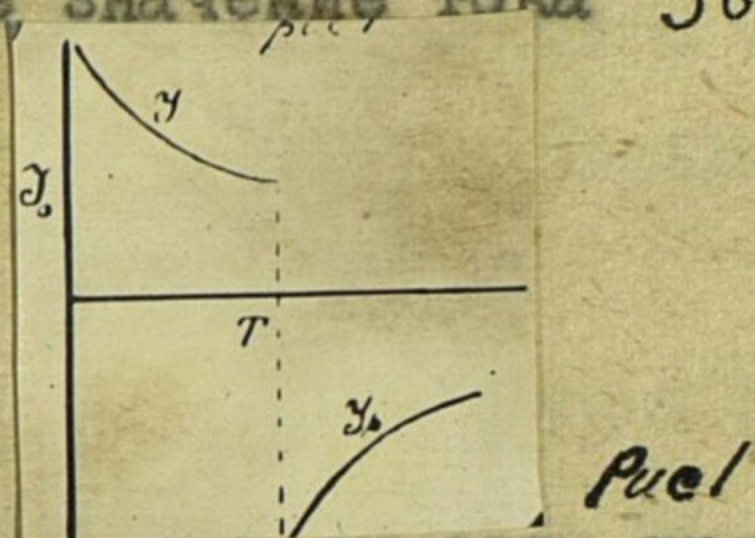
Возникновение заряда, а, следовательно, и электродвижущей силы внутри системы возможно в том случае, если под влиянием тока в некоторых точках произойдет избыточное накопление ионов одного знака, т. е. некоторая часть электрической энергии, пропущенной через ткани как бы адсорбируется в них и биологическая ткань имеет дополнительную электрическую емкость, ^{сверх той} которая вычисляется из геометрических соображений по известной формуле

$$C = \frac{\epsilon S}{4\pi d}$$

где ϵ диэлектрический коэффициент, S площадь электродов и d толщина слоя.

Величина этой дополнительной емкости может быть найдена, если известно начальное значение тока I_0 и конечное I_p /рис.1/

та ~~математическая~~



Величина поляризационной емкости при постоянном токе для живых клеток очень велика, порядка 0,1-1 микрофарады на кв.см.

Существование поляризационной емкости связано, конечно, со структурными особенностями клетки, так как в гомогенных растворах она возникать не может.

Большинство исследователей /Haber¹⁶, Belinfante¹⁸, Cole²⁰, Frisne²²/ считают, что поляризующим элементом клетки является клеточная оболочка. По современным представлениям это тонкий слой, толщиной в несколько молекул, окружающий клетку. Предполагается, что этот слой с трудом проходим для ионов, поэтому представляет большое сопротивление для прохождения тока.

Тонкая клеточная мембрана, по обоим сторонам которой находятся проводящие растворы, представляет собой конденсатор /емкость/. Кривая спада тока и получается в процессе зарядки этого конденсатора. С точки зрения мембранной концепции в клетке почти все электролиты находятся в свободном состоянии. Под этим углом зрения всякие изменения электропроводности, в частности, резкое увеличение проводимости клеток при отмирании и различных патологических процессах трактуется, как увеличение проницаемости клеточной оболочки для ионов. Однако, мембранная теория не имеет под собой солидного фундамента. Эта концепция не подвергалась физико-химическому и физическому анализу и

принималась легко в силу заманчивой простоты.

Следует отметить, что для объяснения поляризационных явлений в клетке мембранная теория является только одним из возможных решений. Те, поляризационные явления, которые существуют в клетках, могут быть объяснены наличием других структур.

Уже давно известный исследователь Вагнер¹⁵⁻¹⁷ указал, что поляризационные явления в диэлектриках могут быть объяснены сложностью их строения. Выводы Вагнера представляют большой интерес для понимания механизма поляризации живых клеток.

Если электропроводность /рис.2/ слоя а выше электропроводности слоя в, то при присоединении источника напряжения



Рис.2

к электродам с напряжением в системе распределяется неравномерно. Большая часть его будет падать в слое в, меньшая в слое а. Так как скорость ионов в растворе зависит от величины потенциала, то в слое в ионы будут двигаться быстрее, чем в слое а. Так как сила тока в обоих слоях равна, то ясно, что количество положительных ионов, подходящих из слоя а к границе раздела и будет больше, нежели количество ионов, уходящих в слой в. Вследствие этого около границы раздела будут накапливаться

избыточные количества ионов положительного знака.

Процесс накопления ионов не будет продолжаться беспрерывно, так как, параллельно с увеличением концентрации положительных ионов будут нарастать диффузионные силы, стремящиеся выравнять концентрацию. При некоторой концентрации ионов будет достигнуто равенство двух сил накапливающей и рассеивающей и наступит состояние равновесия. Сила тока, проходящего в этом случае, будет определяться не приложенным напряжением, и сопротивлением, а встречной электродвижущей силой.

Для интерпретации поляризационных процессов в протоплазме большой интерес представляет одно из положений, выдвинутое Вагнером, показывающее, что явления поляризации возникают не только в слоистых системах, но также и в системах дисперсных /суспензиях и эмульсиях/ в тех случаях, когда электропроводность дисперсной фазы и среды будут различны.

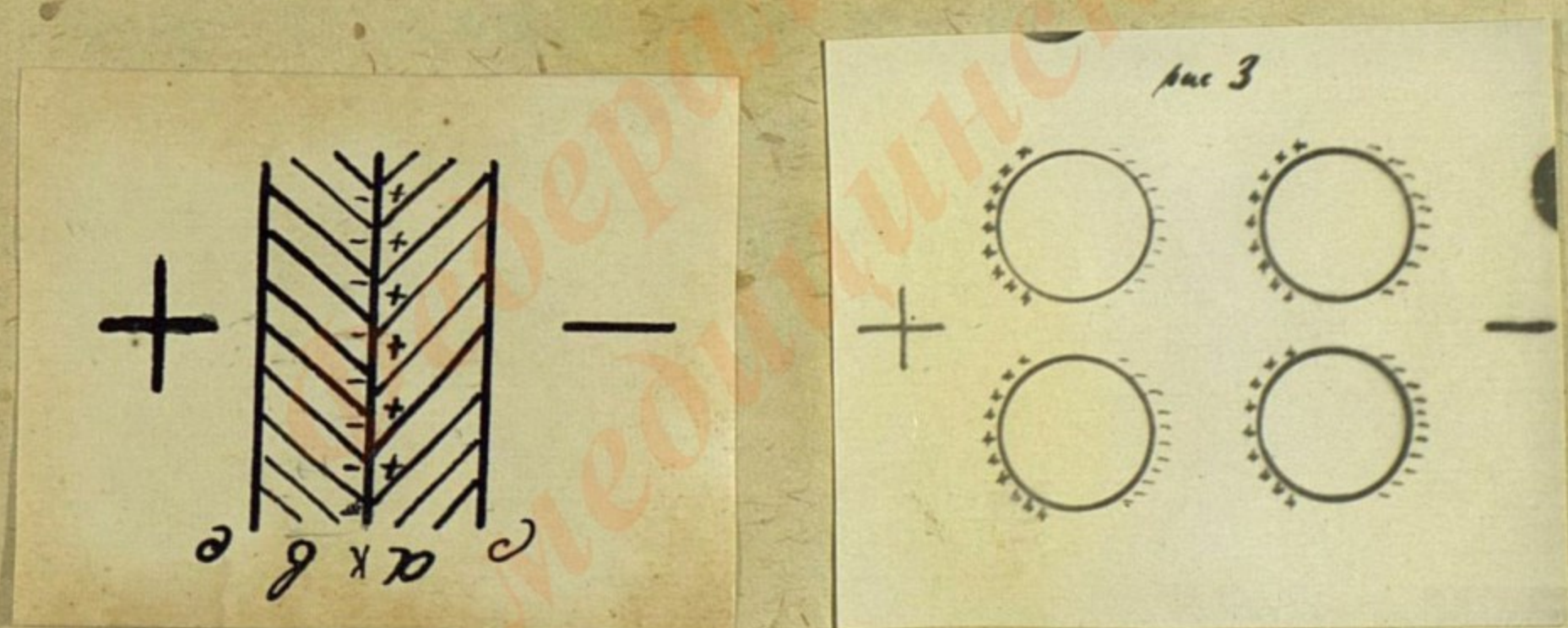


Рис. 3

Величина поляризации в этом случае будет зависеть от соотношения проводимостей дисперсной среды и частиц и соотношения их объемов.

Если среда обладает высокой проводимостью, а частицы очень низкой, то почти весь ток пойдет через среду, как бы шунтирующую частицы. Поляризация в этом случае будет ничтожно мала.

Если проводимости обеих фаз различны, но все же соизмеримы, то некоторая часть тока пойдет через частицы и на границе каждой из них произойдет избыточное накопление ионов.

В белковых, (не живых) коллоидальных растворах альбумина, желатинны явления поляризации, например, не обнаруживаются и это указывает на то, что мицеллы белка в этих растворах обладают очень низкой проводимостью.

Наличие поляризации затрудняет, конечно, методику определения проводимости при помощи постоянного тока. Вполне естественно, что исследование должно было пойти по линии применения к изучению проводимости живых тканей переменных токов, при помощи которых можно элиминировать явления поляризации и таким образом разрешить задачу определения так наз. истинной электропроводности клеток. Эта задача может быть разрешена в том случае, если направление тока меняется очень часто и ионы не будут накапливаться около границ разделов фаз, т.е. величина их пробега за один полупериод будет ничтожно мала. При прохождении переменного тока через живые системы выявляется ряд закономерностей, которые представляют большой интерес для понимания физико-химической структуры живых клеток. Первое явление, с которым приходится встретиться при измерении электропроводности при помощи токов низкой частоты 10^{-4} пер.сек./ это явление сдвига фаз.

Как известно, в обычном синусоидальном переменном токе

кривая силы тока в течении одного полупериода вполне совпадает с кривой изменения напряжения. Если переменный ток пропустить через обычное омическое сопротивление, то никакого сдвига фаз не наблюдается. Если же пропускать этот же ток через емкость /конденсатор/, то окажется, что ток на четверть периода обгонит напряжение. Произойдет т. наз. сдвиг тока относительно напряжения.

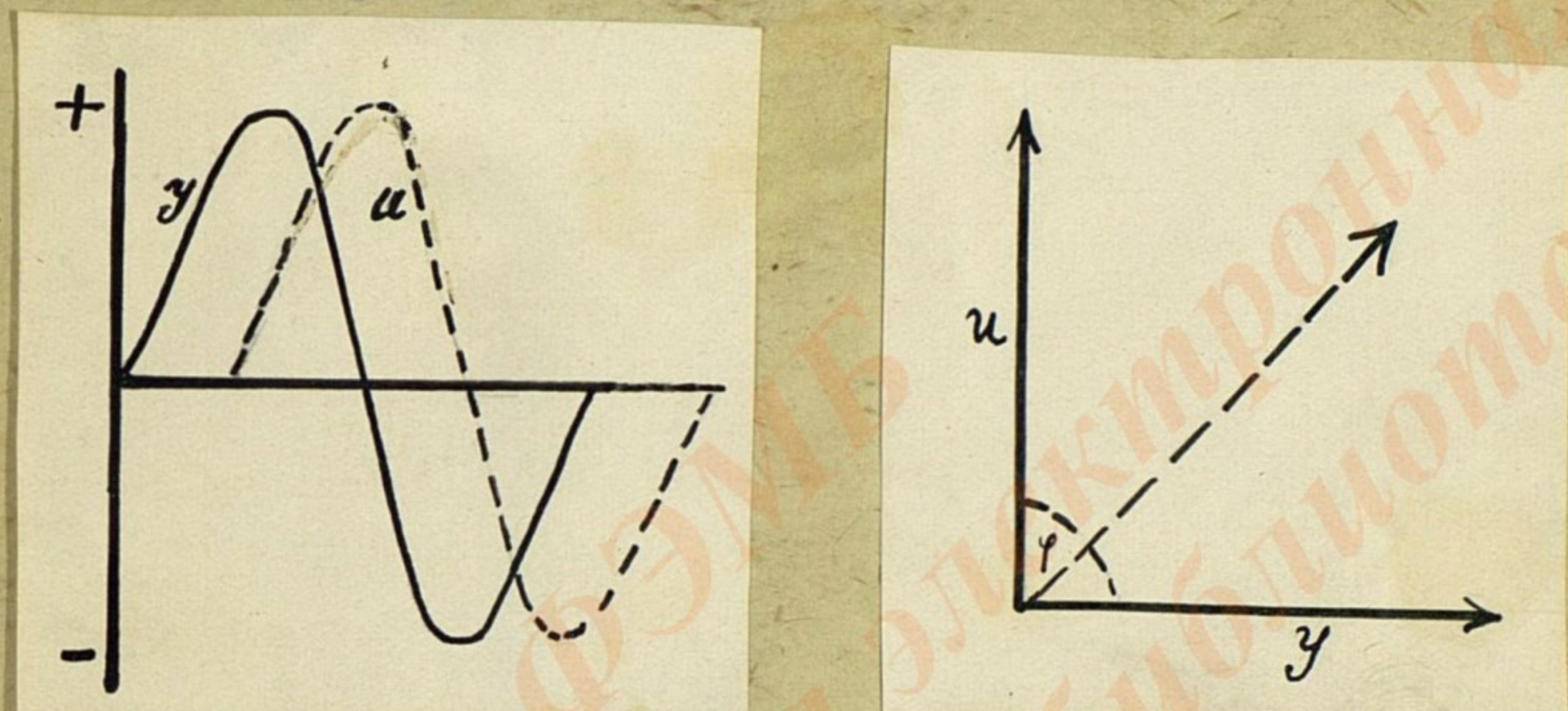


Рис. 4

На рисунке дано графическое изображение сдвига фаз и соответствующая векторная диаграмма.

Наличие сдвига фаз в какой-либо системе, через которую пропускается ток, служит указателем того, что в данном случае мы имеем дело не с чисто омическим сопротивлением, а с более сложной системой, в которую входят и емкостные элементы. При пропускании переменного тока через живые ткани происходят значительные сдвиги фаз. По данным *Cole²⁰ & Frisne²³* величина сдвига фаз для различных тканей ~~выражается~~ порядка $50-90^\circ$.

В электротехнике для более ясного понимания свойств диэлектриков обычно принято создавать электрические модели

так называемые эквивалентные схемы - комбинации из сопротивлений и емкостей, соединенных в такой последовательности, при которой сдвиг фаз, зависимость проводимости от частоты и т.д. будут такие же, как и в изучаемой ди^рлектике.

Попробуем использовать, как модель биологической ткани, наиболее простую схему, а именно схему параллельного включения сопротивления и емкости.

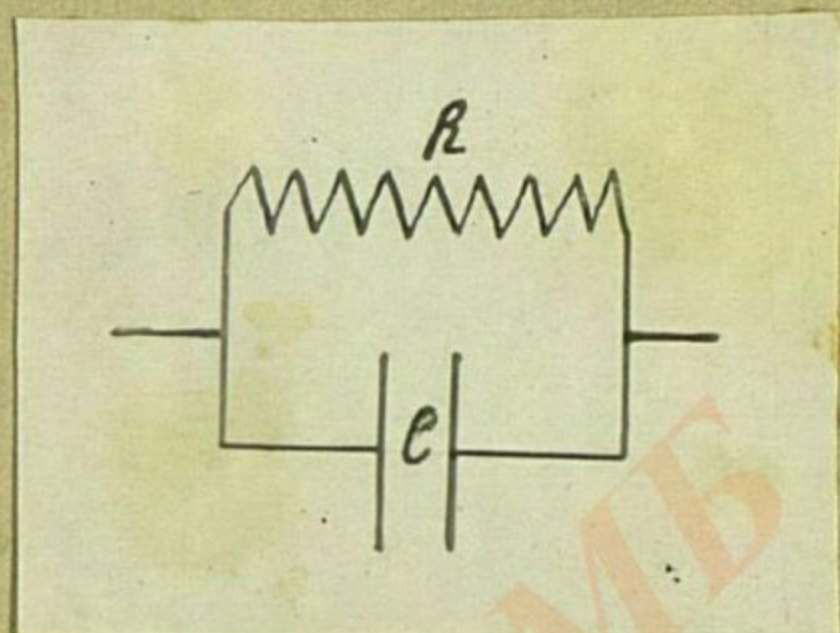


Рис. 5

Емкостно-омическое сопротивление подобного типа носит в технике названия импеданс и равно

$$Z = \sqrt{R^2 + \omega^2 C^2}$$

где R сопротивление
 C емкость
 ω частота /круп/

форм. 6

При пропускании через вышеуказанную схему постоянного тока, ток будет идти исключительно через сопротивление, т.к. емкость /конденсатор/ не будет пропускать постоянного тока. Поэтому импеданс будет при постоянном токе вести себя как чисто омическое сопротивление.

При пропускании переменного тока с увеличением частоты периодов тока проводимость емкости C будет возрастать, так

как сила тока проходящего через конденсатор

$$I = c\omega U$$

/формула 2/

где ω угловая частота

В связи с этим проводимость всей системы будет повышаться с увеличением частоты. Электропроводность не омического сопротивления можно считать не зависящей от частоты.

Так как сила тока текущего через сопротивление, согласно закона Ома, равна $\frac{U}{R}$, где U напряжение, а сила тока, текущего через емкость = I , то общий ток всей системы, конечно, должен быть равным сумме этих двух токов

$$I_a = \frac{U}{R} + c\omega U$$

/формула 3/

Так как сдвиг фаз происходит в емкостной составляющей, то суммарный сдвиг фаз должен выразиться отношением силы тока омического к емкостному

$$I = \frac{Q}{\phi} \quad Q = \frac{U}{R} \\ \phi = c\omega U$$

/формула 4/

В технике обычно принято, без особых оснований, выразить эту величину через \tan угла сдвига. Так как емкостной ток с повышением частоты возрастает, то одновременно должен расти угол сдвига фаз.

Действительно, исследователи, изучавшие электропроводность живых тканей при различных частотах, начиная от несколько периодов в секунду до нескольких миллионов /Phyllipson²⁸, Zaregno²⁹/ твердо установили, что сопротивление живой ткани /мышцы млекопитающего/ не является стабильной величиной, но непрерывно уменьшается при увеличении частоты.

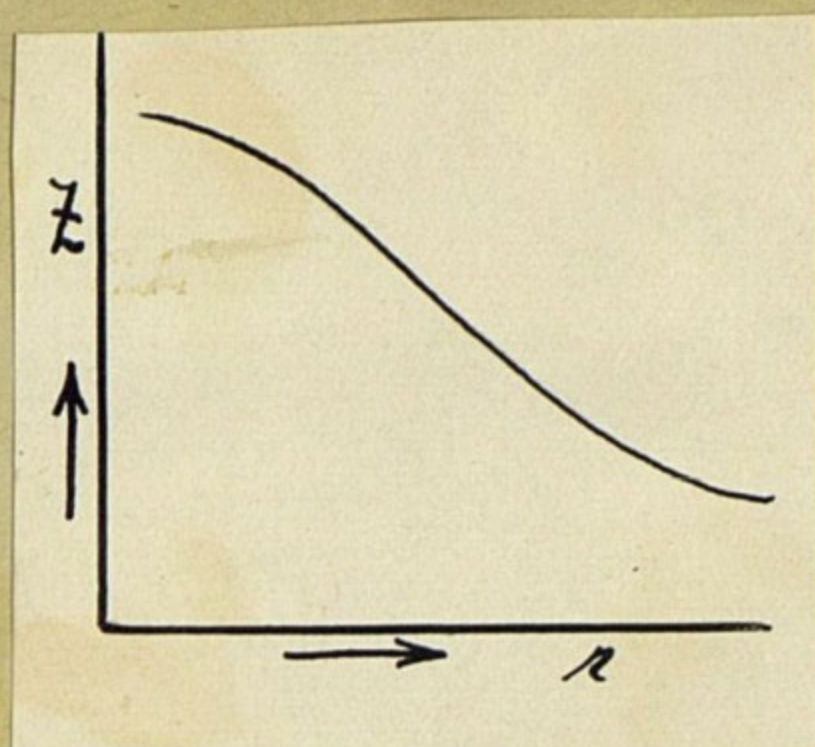


Рис.7

Независимость сопротивления от частоты достигается только тогда, когда количество периодов делается больше 10^6 в секунду. На рисунке дана зависимость суммарного сопротивления от частоты для мышцы /по наблюдениям *Орлипинсона* /. Эта закономерность распространяется на все живые ткани без исключения. Кроме того, для биологических тканей весьма характерно то, что при изменении частоты в довольно широком диапазоне угол сдвига фаз остается приблизительно постоянным. Так, по данным различных авторов величина угла сдвига фаз φ для различных тканей достигает высоких значений и мало зависит от частоты.

Таблица 1.

Нерв лягушки /Лулиес/	64°
Мышца кролика /Фрике/	65°
Кожа лягушки /Куль/	55°
Диафрагма кошки /Куль/	71°
Человеческая кожа / <i>Giedemeister</i> тер/ ³⁰	55°

Наряду с этим можно констатировать, что величина емкости, измеренная на различных частотах, не остается постоянной, но с возрастанием частоты быстро уменьшается и при частотах порядка 10^6 делается ничтожно малой.

На рисунке 8 приведены изменения емкости мышцы по данным *За редпо²⁹* для различных частот.

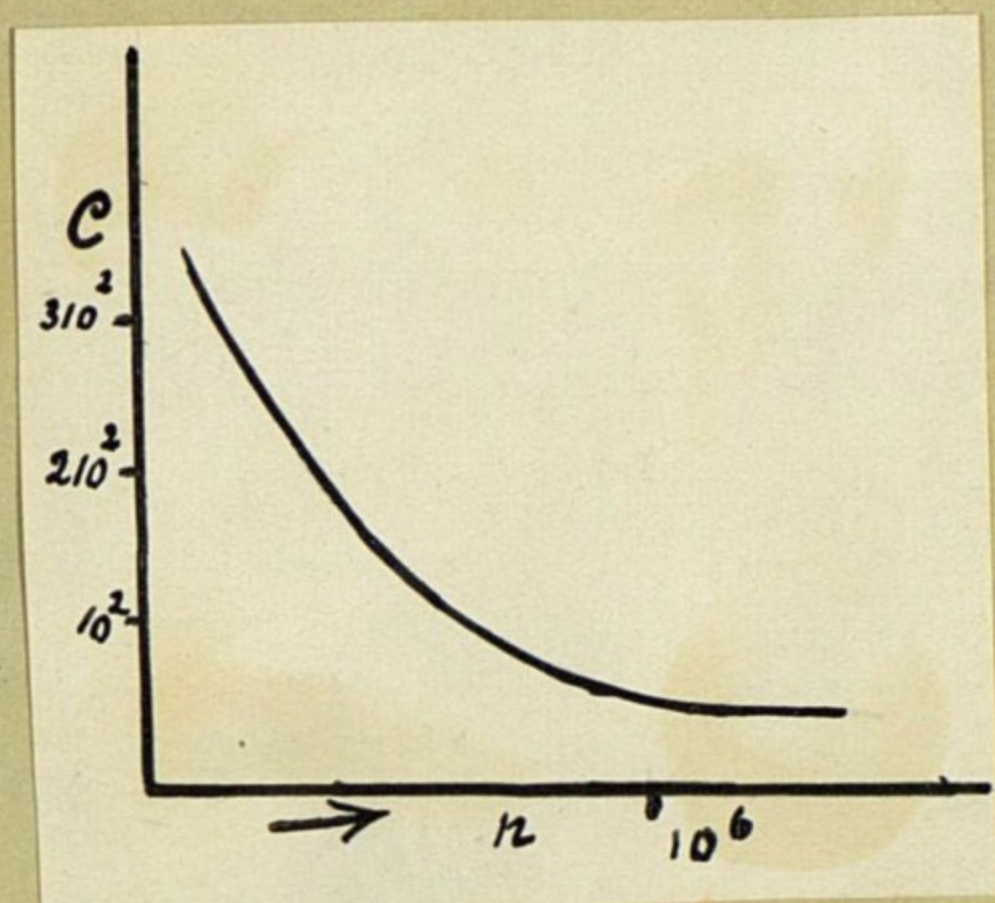


Рисунок. 8

Изменение емкости с увеличением частоты, а также независи-
мости угла сдвига фаз показывает нам, что емкость живых
клеток является по преимуществу емкостью поляризационного ха-
рактера, т.е. эта емкость возникает в результате переноса ио-
нов током. Емкостью статического характера мы можем пренеб-
речь, т.к. величина ϵ в тканях очень мала. *Получа из этого*

Закономерности прохождения тока через живую клетку не вполне
укладываются в ту электрическую схему, которая дана на рисунке.
Врядли конечно можно [redacted] в простой модели
отразить электрическое поведение живой системы.
Тем не менее, при некотором незначительном усложнении, можно
воспроизвести довольно удовлетворительно электрические свойства
тканей для *ограниченного* диапазона частот,

Несмотря на то, что схемы эти строятся на чисто формальных пред-
посылках, исследователи пытаются отдельным элементом схемы
давать некоторую физико-химическую интерпретацию.
На рисунках показаны два варианта этих схем, предложенных Фрикелем

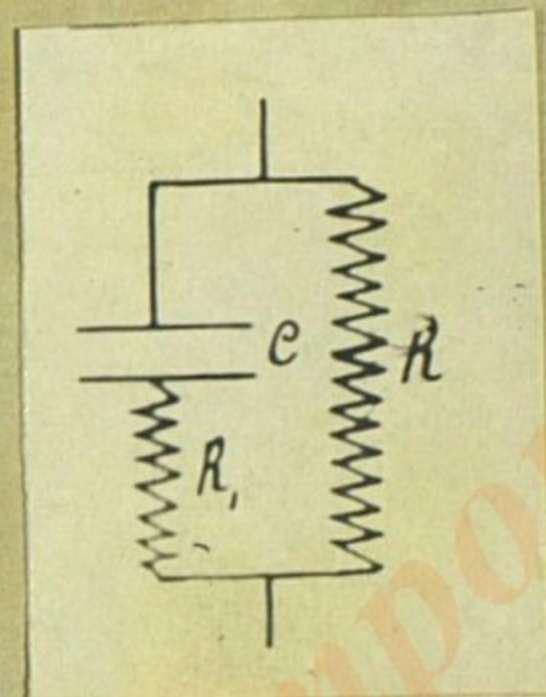
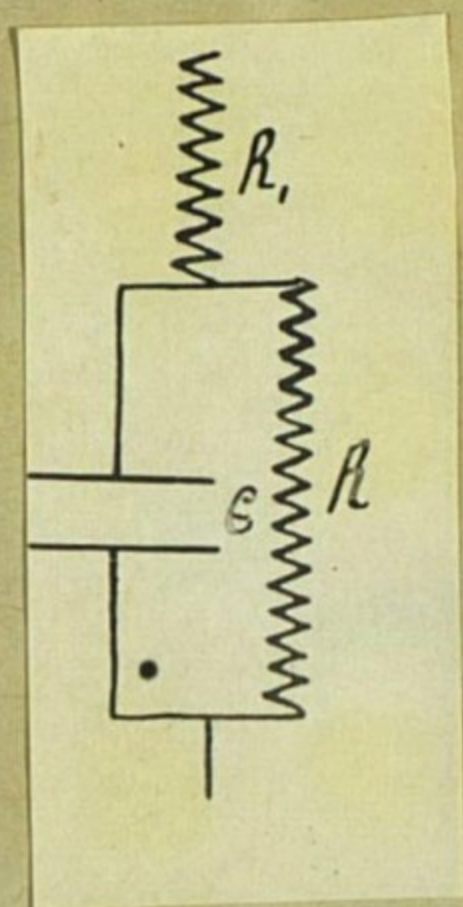


Рисунок. 9.10

В элементы этих схем большинство исследователей вкладывают конкретные представления, считая, что C - емкость клеточной оболочки, R_1 - сопротивление внутренних частей клетки, R - сопротивление мембраны. Вышеуказанные схемы весьма удовлетворительно воспроизводят электрические свойства живых клеток при различных частотах, т.е. уменьшение величины Z с частотой и одновременное изменение емкости. Однако, измерения показывают, что электропроводность на очень низких частотах изменяется очень незакономерно.

Так, например, Cole³¹ мог констатировать при измерении электропроводности яиц морского ежа, что в пределах от 0 частоты до 10^8 емкость при увеличении частоты не меняется.

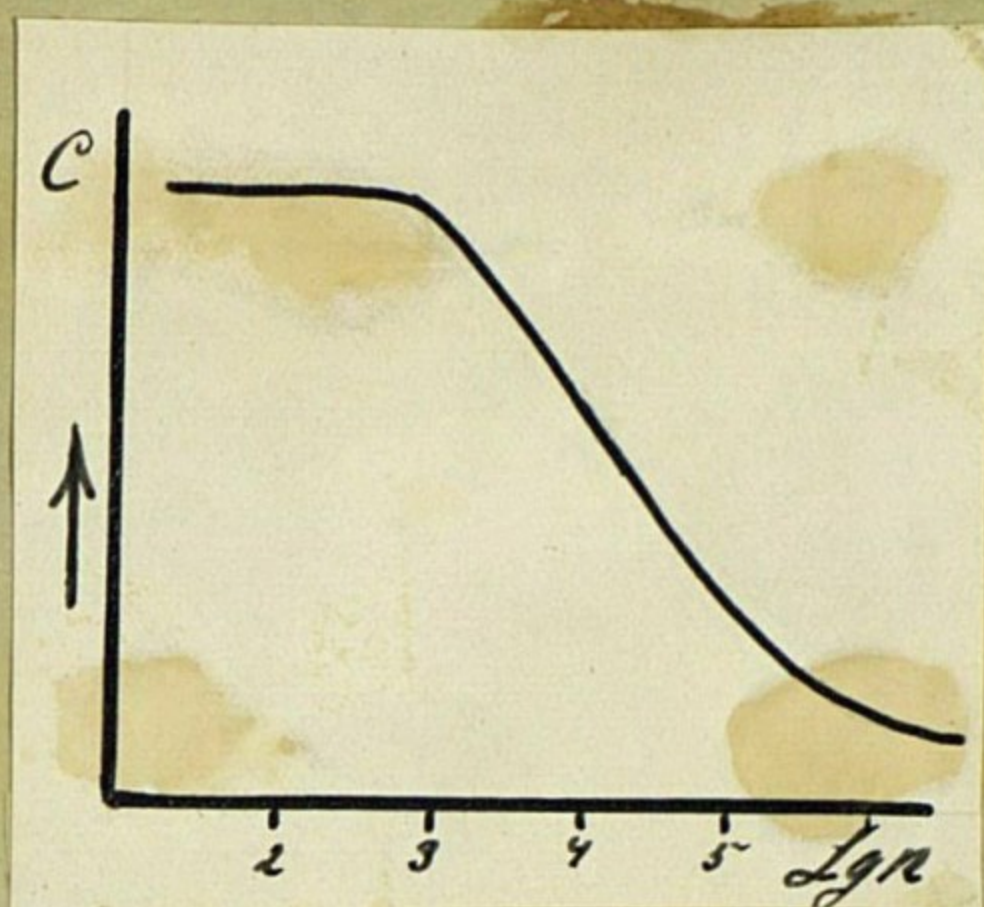


Рисунок 11.

и только при частотах выше 10^3 ясно выступают вышеуказанные закономерности, связанные с поляризационными явлениями в клетки. При частотах больше 10^6 , как мы указывали выше, поляризационные явления сводятся к нулю и электропроводность живых тканей оказывается довольно высокой порядка $\frac{1}{20}$ моля из расчета на NaCl . Эта величина более или менее постоянна для клеток различных типов и варьирует в сравнительно узких пределах. Те немногочисленные данные, которыми мы располагаем в настоящее время, говорят о том, что при различных физиологических изменениях величина высокочастотной электропроводности почти не изменяется. Hartree³³, например, показал, что высокочастотная проводимость мышцы заметно не изменяется даже в момент сокращения. При таком процессе как отмирание /по наблюдениям Спиллсона²⁸/ величина внутренней электропроводности очень долго удерживается на одном уровне после того, как мышца потеряла окончательно способность возбуждаться. Некоторое повышение высокочастотной проводимости наблюдается только тогда, когда в отмирающей ткани начинается процесс

цитолиза. Совершенно иначе ведет себя проводимость на низких частотах. Еще лет 20 тому назад *Osterhout*³⁴ собрал очень показательный материал, ярко иллюстрирующий зависимость низкочастотной электропроводимости от физиологического состояния ткани. В этих исследованиях он показал, что электропроводность живых тканей очень низка, при отмирании же она резко возрастает. Электропроводность мертвой ткани в несколько раз превосходит электропроводность тканей живых. На рисунке дана классическая кривая *Остергаута*, полученная им для процесса отмирания мышцы лягушки.

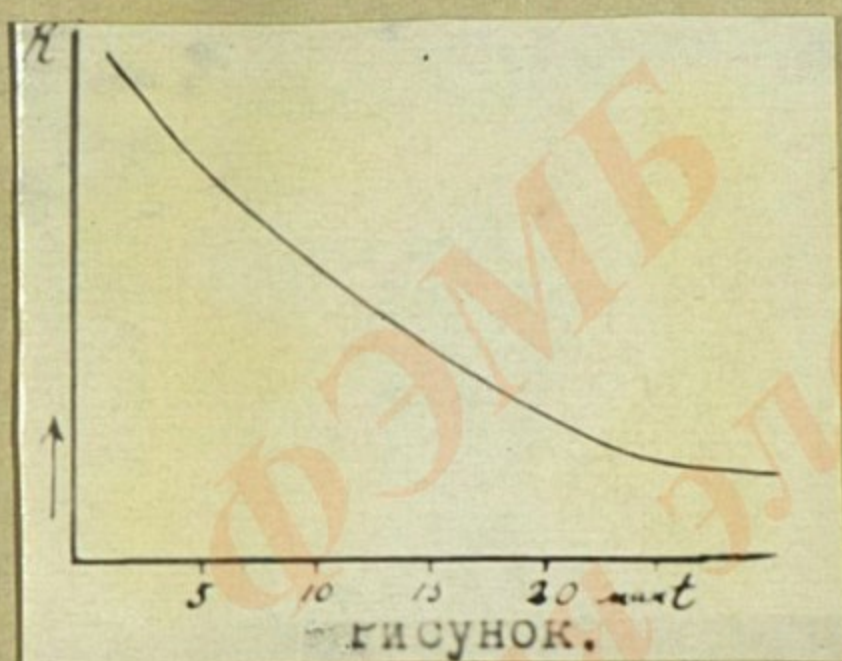


Рисунок. 12

В равной мере он указывает на то, что на раздражение и изменение солевого состава среды ~~клетки~~ отвечает значительным изменением проводимости. Исследования *Остергаута* были расширены рядом последующих авторов, которые установили, что наиболее характерные изменения физиологического и патологического характера сопровождаются довольно резкими сдвигами проводимости. *Mc Clendon*³⁵, например, нашел, что при оплодотворении яиц морского ежа наблюдается характерный скачок проводимости. *Grife Hosmer*³⁶ указывали на то, что проводимость патологических тканей выше, чем нормальных. Изменения сопротивления растений в результате возбуждения и гибели были изучены *Ben*³⁹ *Lambert & Greener*³⁸ констатировали уменьшение проводимости

при сокращении сердца *Quensel*³² установил, что такой же эффект наблюдается в слюнной железе при раздражении. Исследования

*Die Meister*³⁰ установили, что значительные изменения низкочастотной электропроводности могут служить критерием для оценки действия различных раздражителей на кожу. Нам удалось ^{напр.} показать, что изменения низкочастотной проводимости кожи служат отражением действия бальнеологических факторов на кожу.

Все вышеприведенные исследования были проделаны на постоянной частоте, которой обычно пользуются в технических массажах, т.е. 500-1000 пер. в секунду. Конечно, одновременно с уменьшением суммарного сопротивления должна уменьшаться также емкость.

Те исследователи, которые изучали изменения емкости /*Rowland Grile*³⁶ *Zoon*³⁷/ отмечают, что при явлениях раздражения, наряду с изменениями сопротивления, изменяется параллельно и емкость. При отмирании емкость непрерывно уменьшается и мертвая ткань ведет себя как чистое беземкостное сопротивление. В работе *Luyet*³⁸ приведены очень характерные данные изменения частотной дисперсии электропроводности /импеданс/ при отмирании *клеток Valonia*

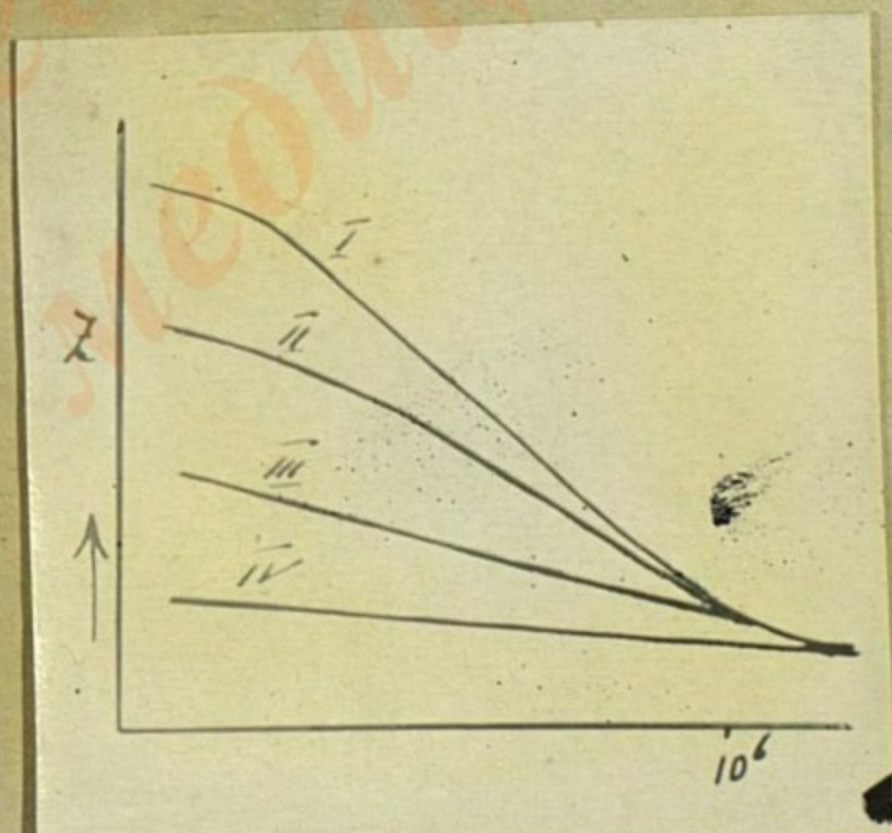


Рисунок. 13

I кривая снята для свежей неповрежденной ткани, II - та же ткань после 5-ти минутного действия температуры 50° /вода/, III - после 10 минутного температурного воздействия; IV - после кипячения в течение 5 минут дает полную независимость от частоты.

Крутизна дисперсионной кривой явно связана с процессами жизнедеятельности клеток. Физиологи не дают ответа, почему низкочастотная проводимость обнаруживает тесную связь с жизнеспособностью клетки, ^{Так как} в руках физиологов электропроводность фигурирует не как точный физико-химический метод анализа, а имеет значение, ~~как~~ биологического приема улавливающего изменения в тканях.

Тесная связь, существующая между электропроводностью ткани и ее жизнеспособностью может служить хорошим критерием для оценки состояния ткани в тех случаях, когда эксперимент ставится на изолированных органах и тканях.

Следует отметить, что характер дисперсионной кривой не одинаков для различных клеток. З

дисперсии для большинства органов лежит в пределах от 10^4 до 10^6 сек^{-1} , за исключением крови /Danzon¹⁹³⁷/ где область дисперсии распространяется до 10^7 $\text{пер}.$

Видные различия наблюдаются в характере падения кривой дисперсии.

Для электропроводности тканей и характерна на различных

частотах мы установили, что крутизна падения электропроводности с

изменением частоты не одинакова для различных тканей. Если выразить

плотную величину изменения дисперсионной кривой отношением $\frac{R_{\infty}}{R_0}$ то она

Таблица 2.

K

$$K = \frac{R_{\infty}}{R_{\omega}}$$

Печень	- 7,5 - 8,4
Почка	- 7,8 - 8,4
Мышцы	- 4,8 - 5,5
Кожа внут.стор.	5 - 6
Мозг сер.вещ.	2 - 2,5
Нерв	2,4 - 3
Роговица	1,8 - 2
Хрусталик	1,1 - 1,2
Эритроциты	6 - 6,5
Сыворотка	1

верся, что величина поляризационной емкости, которая выражается **Этим** отношением, варьирует в очень широких пределах. Прямой является следствием, что поляризация имеет более высокое значение для тех органов, у которых обмен веществ протекает интенсивнее.

Наличие зависимости между величиной **K** и состоянием клетки как тест на ее полноценность мы использовали при нашем исследовании воспаления. Однако, электропроводность можно использовать, как прямой физико-химический метод для анализа определенных физико-химических процессов, которые происходят в клетках.

в/ физико-химическая интерпретация электропроводности живых тканей.

Большинство биофизиков считают, что в феномен электропроводности-зависимость ее от частоты является результатом наличия клеточной оболочки. Это мнение твердо установилось с тех пор, как **Höber¹⁷** в 1910 году нашел, что электропроводность эритроцитов при высоких частотах в несколько раз превосходит их проводимость на низких частотах. На основании этого наблю-

дения Зебера и его последователей считается, что ионы, [т.е. калий] в протоплазме находятся в совершенно свободном состоянии. Вокруг клетки ~~имеется~~ клеточная мембрана, около которой происходят явления поляризации и которая обладает способностью избирательно пропускать калий внутрь клетки, не пропуская при этом натрия.

Явление такого избирательного распределения, при котором по одну сторону мембраны находятся ^{около} 100% K, по другую 100% Na не находит себе рационального физико-химического объяснения, поэтому приходится предполагать особые свойства мембраны, которая отбирает ионы калия и не выпускает их наружу. С этой общепринятой точки зрения изменения поляризационных свойств, т.е. колебания электропроводности на низких частотах трактуются как изменения состояния клеточной мембраны, т.е. как изменение ионной проницаемости.

Положение, что низкочастотная проводимость, т.е. поляризация является мерой ионной проницаемости, нужно поставить под сомнение Против этого говорит ряд фактов. Первое волокно-отросток клетки не должно иметь мембран, расположенных перпендикулярно оси, тем не менее нерв обнаруживает явления поляризации, т.е. зависимость электропроводности от частоты как в продольном, так и в поперечном направлении. Мы произвели проверку этого явления и весьма тщательно поставили опыт с тем, чтобы силовые линии были направлены строго по длине нерва. При этом мы наблюдали, что проводимость нерва в продольном направлении зависит от частоты.

Величина поляризации несколько меньше, чем в поперечном направлении (таб. 3)

Второй факт, ставящий под серьезное сомнение, возможность влияния поверхностного слоя на ионную проницаемость. замыкается
в следующем

Таблица 3

В д о л ь				П о п е р е к						
Низ. частоты		Высокие частот.		Низк. частоты			Высок. частот.			
B	C	B	C	K	B	C	B	C	K	
2800	175	1400	4	2	2600	270	1800	8	2,1	
1310	280	622	0	2,1	2830	380	1164	10	2,4	
1420	0	1450	0	1	1150	0	1170	0	1	
2163	230	1104	0	1,95	3420	320	1520	0	2,25	
1450	180	680	5	2,1	2670	280	1320	0	2	
1450	0	1320	0	1,1						

Фрике ²² в одной из своих работ отметил, что эритроциты осторожно гемолизированные дистиллированной водой полностью сохраняют свои электрические свойства, т.е. электропроводность ^{сх} обнаруживает зависимость ^{от} частоты. Как известно, в эритроцитах кролика содержится преимущественно калий, в сыворотке же калия очень мало. Если при гемолизе из эритроцитов выходит и гемоглобин, то ясно, что мембрана эритроцита сильно повреждена, т.к. размеры молекул гемоглобина очень велики / 10^7 / . Если стоять на мембранной концепции, то следует ожидать того, находящийся в протоплазме в свободном состоянии, должен так же перейти наружу в сыворотку. Мы повторили опыт Фрике и получили при полном гемолизе неизменность электрических свойств.

Таблица 4.

Десн	До гемолиза				После гемолиза			
	сопротивл. в Ω		$R_{к2}$ K		сопротивл. в Ω		$R_{к2}$ K	
	$0,8 \cdot 10^4$	$2,2 \cdot 10^6$	$R_{к2}$	%	$0,8 \cdot 10^4$	$2,2 \cdot 10^6$	$R_{к2}$	%
Гемолиз вода 30%	820	480	1,7	22	800	480	1,7	21
то же	805	440	1,8	20	805	435	1,8	20
" "	810	440	1,81	23	756	420	1,8	20
" "	795	425	1,68	19	765	450	1,7	20
" "	800	440	1,8	20	778	445	1,75	22
Сакон	795	460	1,75	23	560	480	1,16	95
	805	450	1,78	23	630	420	1,3	65

Калий при этом, как оказывается, целиком остается в эритроцитах и выходит в сыворотку только тогда, когда явления поляризации исчезают. Этот факт позволяет нам сделать вывод, что

Ионизированный калий задерживается не мембраной, а при помощи каких то других структурных элементов.

Тринчер в нашей лаборатории исследовал изменение проводимости эритроцитов при нагревании на высокой и низкой частоте и получил следующие результаты.

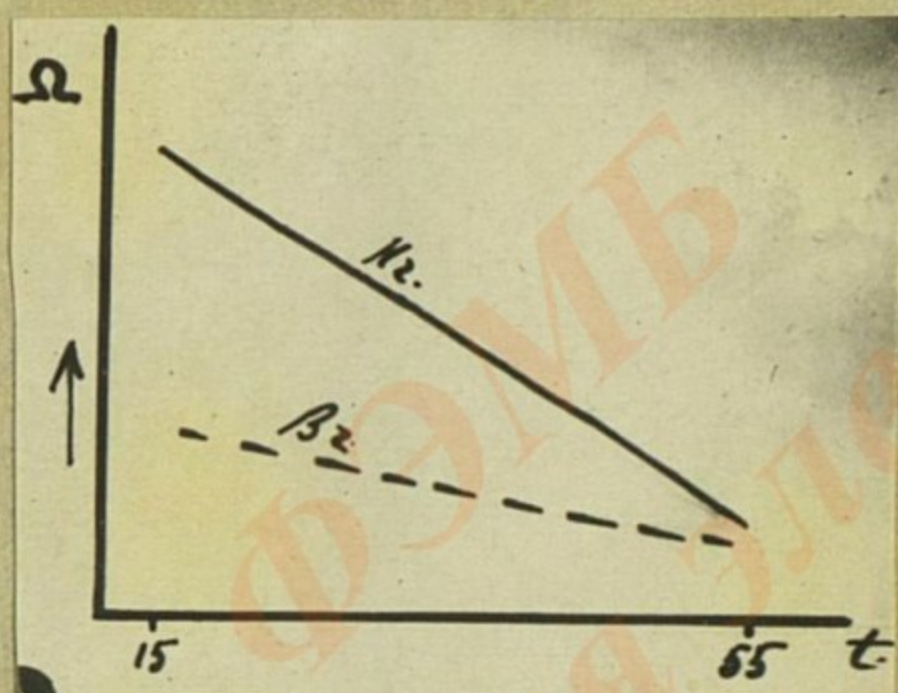


Рисунок 12

При нагревании до 52 градусов низкочастотная электропроводность непрерывно повышается. ^{Есть} Высокочастотная же ~~не~~ повышается, как это и следует ожидать, вследствие понижения вязкости. При 52-53° С проводимость низкочастотная и высокочастотная дают одну и ту же цифру, поляризация окончательно падает. Если интерпретировать этот результат с точки зрения мембранной теории, то можно сказать, что при 52° мембрана разрушена и, следовательно, калий должен перейти из эритроцитов наружу. Однако, оказывается, что весь калий полностью сохраняется в эритроцитах и не выходит наружу. Интересно то, что этот процесс полностью обратим и при понижении температуры поляризация снова полностью восстанавливается. Если нагревание превышает 53°, то возвращения к норме нет.

Вышеприведенные факты весьма убедительно показывают, что электропроводность низкочастотная не может быть интерпретирована как функция проницаемости мембраны. Так же мы можем утверждать, что калий в протоплазме клеток не находится в свободном состоянии. В то же время ясно, что явления поляризации связаны с присутствием калия в протоплазме клеток.

Мы провели ряд опытов с эритроцитами и другими тканями, которые показали, что величина поляризации и освобождения калия тесно связаны друг с другом настолько, что на основании

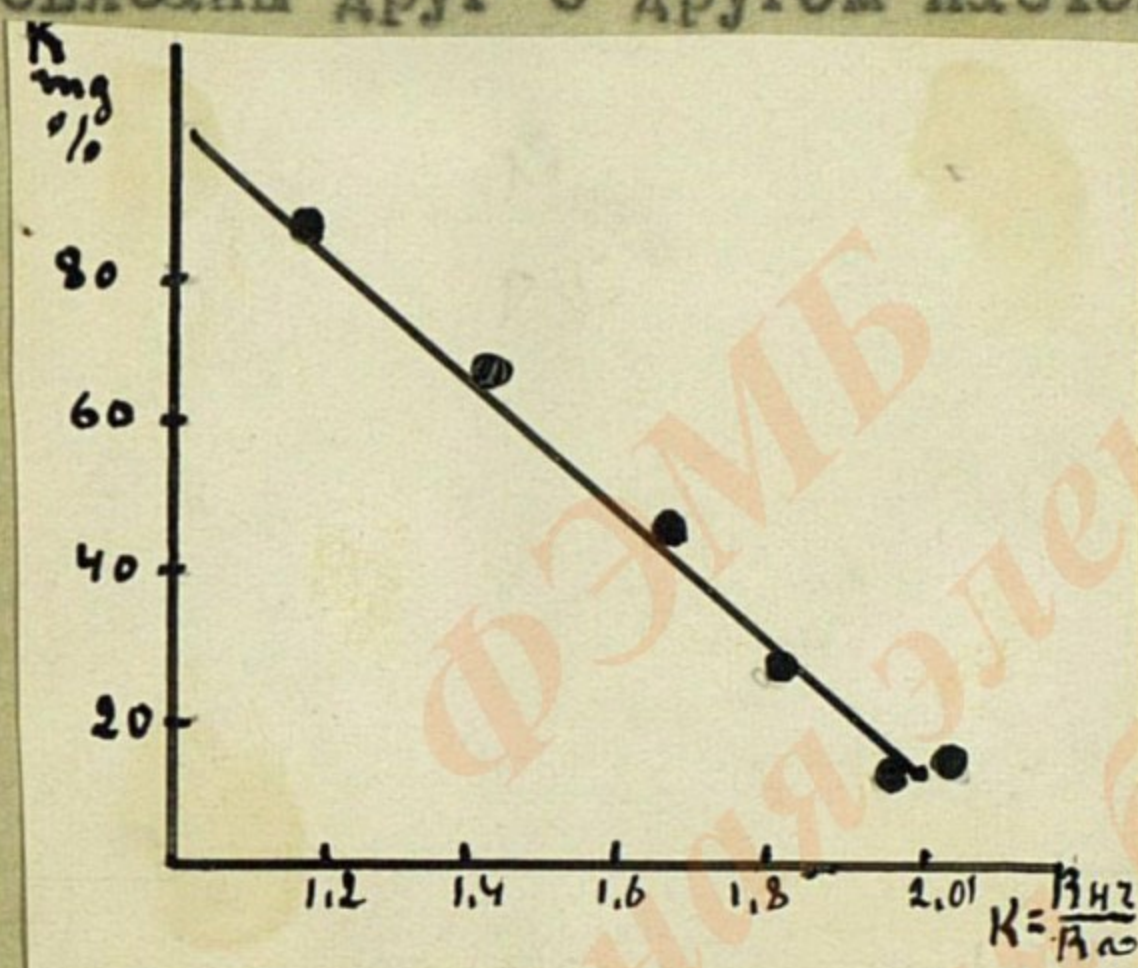


Рисунок 13

поляризации клетки можно предсказать то количество калия в миллиграммах, которое будет обнаружено во внешней жидкости.

Мы уже указывали выше, что с физико-химической точки зрения мембранная модель не является единственным объяснением зависимости электропроводности клетки от частоты. Не обязателен так же и постулат, что ионы в протоплазме должны быть в свободном состоянии. Легко подобрать ряд моделей, которые будут удовлетворять поставленным требованиям /см. стр. 10/.

Вероятнее всего, что поляризация клетки является по существу поляризацией белка, т.е. комплекса, в котором калий химически связан, но может все же совершать движения под действием тока.

При измерениях токами низкой частоты мы фактически измеряем количественно отщепление калия от каких-то элементов протоплазмы, являющихся основным скелетом строения клетки.

Калий в протоплазме является причиной электрополяризационных явлений. Когда калий освобождается и покидает протоплазму, то емкость ^{уменьшается} и одновременно увеличивается омическая электропроводность. Если наблюдать отмирание какой-либо ткани, одновременно регистрируя обе эти величины, то можно констатировать, что изменения сопротивления являются зеркальным отображением изменений емкости. На рис. 14 нами приведены результаты этих измерений на мышце кролика, медленно погибающей при $T^{+35^{\circ}\text{C}}$.

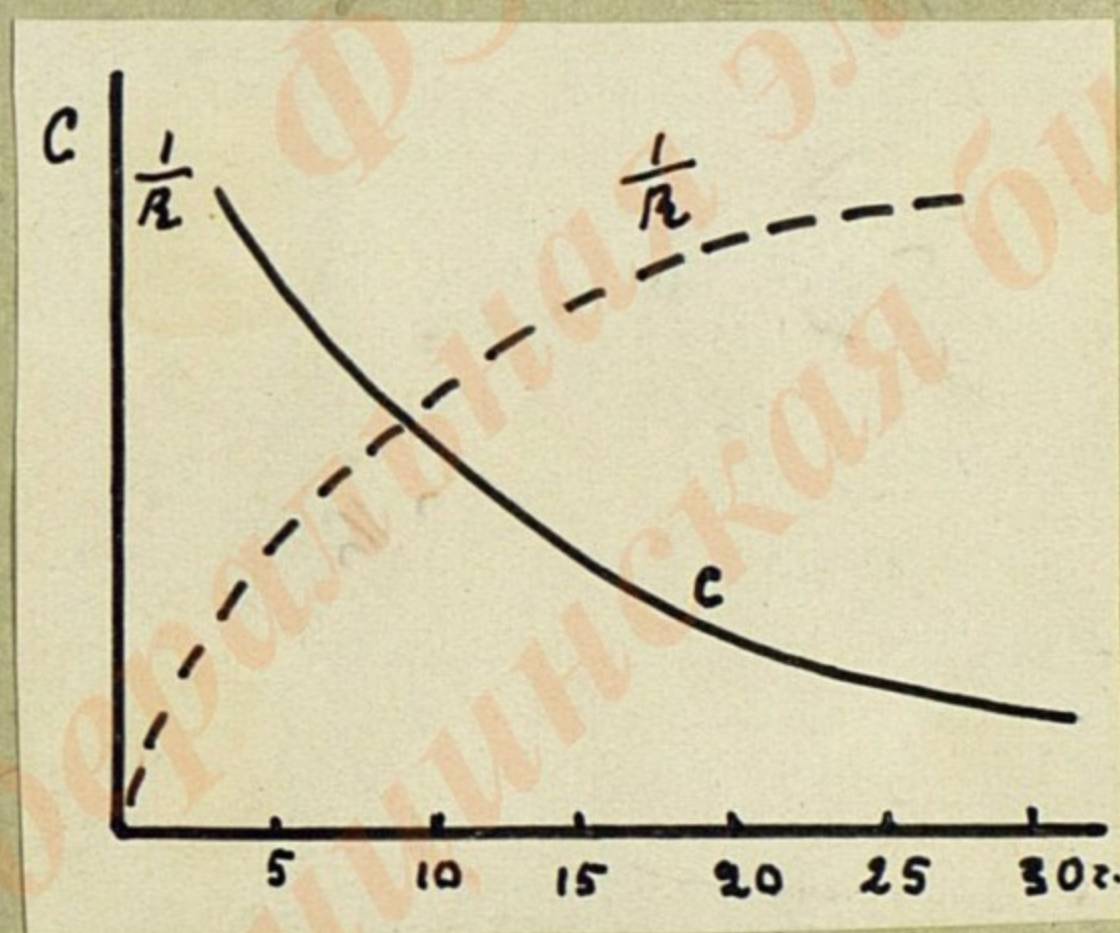


Рисунок. 14

Зависимость такого типа должна наблюдаться всегда в тех случаях, когда емкость обусловлена поляризацией. Однако сплошь да рядом при действии различных факторов на живые ткани этот параллелизм не выявляется.

Очень часто падение сопротивления не сопровождается соответственным изменением емкости.

На рис. 15 приведен опыт, который ясно показывает полное отсутствие на некотором, правда, участке зависимости между изменением емкости и сопротивлением.

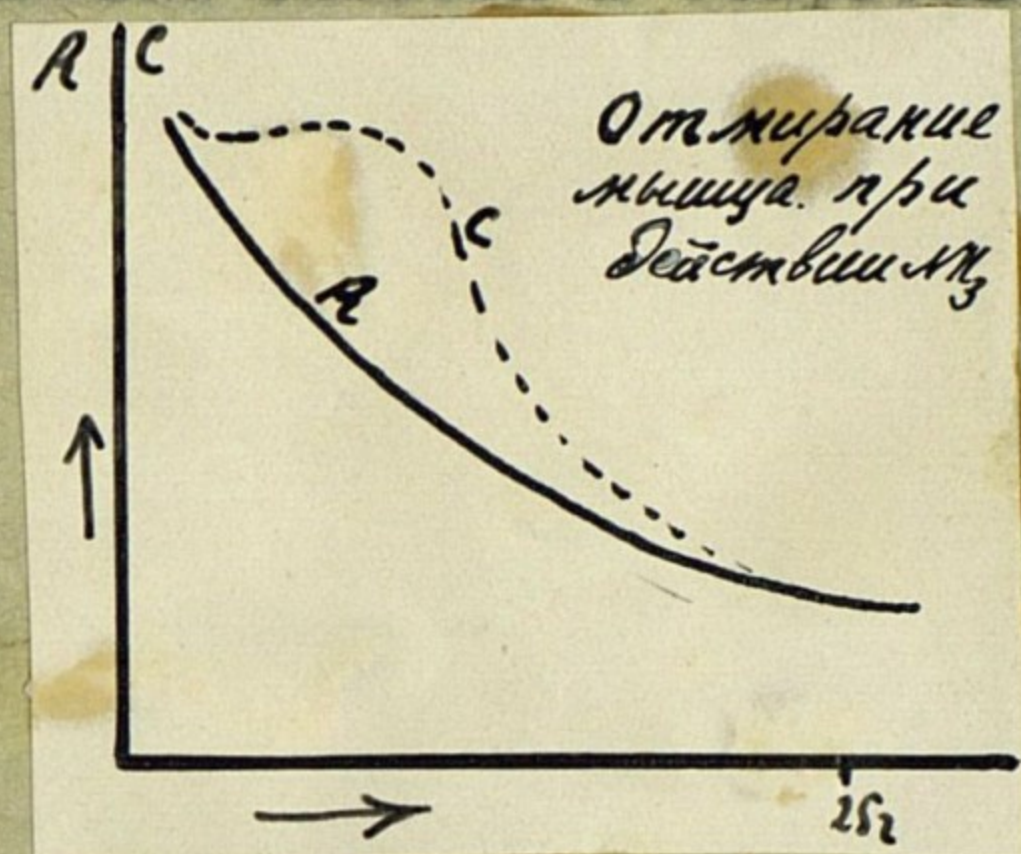


Рис 14

Просматривая работы наших предшественников, мы нашли очень много таких же примеров. Попыток анализировать это явление не было.

Нам удалось установить, что в тех случаях, когда наблюдается подобное расхождение происходят ~~минимальные~~ изменения в набухательной способности тканей.

Как правило, можно отметить, что в тех случаях, когда сопротивление ткани увеличивается и не сопровождается увеличением емкости, набухательная способность тканей повышена. В тех случаях, когда при падении сопротивления емкость мало изменяется набухательная способность понижена. Расхождение кривой изменения емкости и сопротивления может служить показателем процессов набухания протоплазмы клеток. Изменения сопротивления, вызванные тургорными явлениями, выявляются с большой резкостью при понижении частоты и в особенности резко проявляются на постоянном токе.

Происходит это от того, что живые клетки, в силу высокой поляризуемости представляют очень большое сопротивление токам низкой частоты и в особенности постоянному току.

Так как удельная проводимость межклеточной жидкости для этих токов ~~первое~~ ^{очень} высока, то он стремится, следуя закону Кирхгофа, идти через ^{ни} межклетки. Поэтому проводимость живой ткани необходимо рассматривать, как проводимость двухфазной системы. Закономерность проводимости для таких двухфазных систем /эмульсия/ была теоретически выведена Максвеллом, который дал следующую формулу

$$\frac{z_1 - 1}{z_1 + 2} = p \frac{z_2 - 1}{z_2 + 2}$$

6

где z удельное сопротивление всей системы, z_1 удельное сопротивление жидкой фазы, z_2 - удельное сопротивление взвешенных частиц и p их объемная концентрация. Если мы применим эту формулу для живой ткани и под z_2 будем считать сопротивление живых клеток, то z_1 сопротивление межклеточной жидкости. Электропроводность межклеточной жидкости порядка 0,05 в то же время проводимость z_2 на постоянном токе лежит в пределах 0,00003-0,0003. При этих условиях изменения объема p будут играть очень большую роль. Если мы придадим значение p в пределах от 85-100%, то увидим, что ^{уже} увеличение ^{на} 2% вызывает уже значительный сдвиг общей проводимости.

Изменения объема клеток могут происходить как результат набухания их или обратного процесса. Набухание будет уменьшать общую проводимость. В главе, посвященной экспериментальным исследованиям мы дадим экспериментальные доказательства, позволяющие нам интерпретировать некоторые изменения проводимости на низкой частоте, как процесс набухания. Эти изменения проводимости в результате изменения объема клеток дают себя знать также и при частоте 10.000 периодов только в меньшей степени, так как удельное сопротивление живых клеток здесь будет значительно ниже. Правильный анализ полученных изменений электропроводности позволяет нам определить, имеем-ли мы дело с нарушением структуры протоплазмы или с явлениями набухания. В целях методических мы поставили несколько опытов с тканями в процессе их набухания, получили при этом данные, целиком подтверждающие нашу точку зрения. В таблице даны результаты последовательного набухания и отбухания изолированной мышцы при действии на нее гипо- и гипертоническими растворами /Ringer's/, где осм. давл. в гипер. сторону получается за счет сахара.

Таблица 5

Осм. давление

Δ	t	R_{10}^a	R_{10}^b	C
5,6		970	410	250
6,5	5 м.	1020	422	245
	10 м.	1130	420	250
5,6	5 м.	1060	427	250
	10 м.	940	430	248
	20 м.	990	433	240
4,5	5 м.	925	430	250
	10 м.	860	430	230
5,6	5 м.	945	420	235
	10 м.	1005	410	250

В большинстве случаев обратимые изменения электропроводности на низкой частоте вызваны процессами набухания. Вопрос, имеем-ли мы дело с набуханием клеток или другим процессом, решается анализом данного участка. Так, например, мы уже указывали выше, что при изменении поляризационной способности клетки, при отмирании, всякое увеличение электропроводности должно сопровождаться соответственным уменьшением емкости и, наоборот. Если изменение сопротивления не сопровождается изменением емкости, то мы с большой долей вероятности можем утверждать, что изменение проводимости результат изменения тургора клеток. Зачастую форма кривой изменения сопротивления дает основание говорить о явлениях набухания, т.к. она передает характерную для этого процесса зависимость.

Свойство низкочастотного и постоянного тока огибать клетку сказывается и в физиологических аномалиях действия тока. Теоретически, конечно, следует ожидать, что чем меньше количество периодов, тем более сильный физиологический эффект должен производить ток. Однако, если взять кривую летального действия токов различной частоты, то

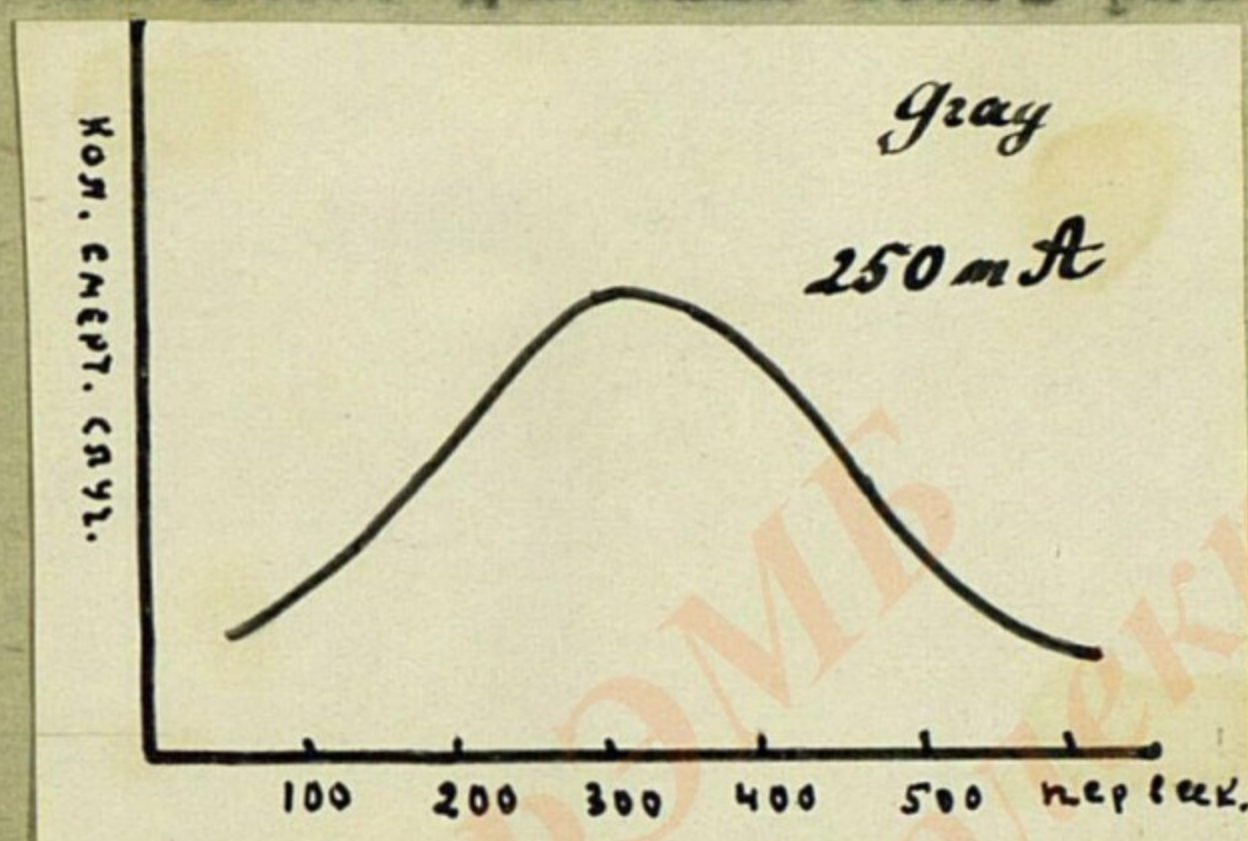


Рисунок. 15

оказывается, что при одинаковой силе тока, пропущенной через организм, прямой ток оказывается менее летальным, чем 25-50 периодный. Эта аномалия опять объясняется тем, что непосредственно через клетку при наложении постоянного напряжения течет очень малая часть тока, так как он попадает преимущественно в межклеточные пространства. Искажения, которые вносят в кривую электропроводности изменения соотношения между объемом межклеточников и собственно клетками, позволяют нам по изменениям электропроводности обнаруживать изменения тургора клеток ткани, т.е. осмотические изменения в протоплазме.

Весьма важные **данные** для расшифровки процессов, происходящих в тканях **дает** высокочастотная проводимость. Как мы уже указывали выше, при увеличении частоты

переменного тока проводимость живых тканей увеличивается и достигает предела приблизительно при 10^6 пер. в сек.

Указаний об измерениях^{ны} проводимости тканей на этих частотах в литературе нет и исследователи избегают пользоваться этими токами, так как установилось мнение, что высокочастотная электропроводность совершенно не меняется ни при каких условиях. Это не так, изменения^{вз} электропроводности клетки можно констатировать в клетке и мы неоднократно имели возможность убедиться, что в ряде процессов изменения очень специфичны. Изменения высокочастотной проводимости мы можем физико-химически интерпретировать, как изменения свободных ионов или вернее, зарядов в клетке. Изменения высокочастотной проводимости имеют меньшую амплитуду, нежели низкочастотной. Если при низкой частоте точность измерений может быть порядка 3-5% при высокой частоте, она не должна быть меньше 1%.

Резюмируя наши соображения, можно сказать, что при помощи измерения электропроводности живых тканей можно изучать ряд физико-химических процессов: процесс освобождения калия, осмотическое и коллоидальное давление.

Под этим углом зрения мы построили нашу методику и анализ результатов.

М е т о д и к а .

Основное условие измерения электропроводности живых тканей - сведение к минимуму вредного действия пропускаемого тока на клетку. Электрический ток, как известно, является раздражителем и если недоучесть это обстоятельство, то можно получить сильно искаженные результаты. Учитывая это

необходимо все измерения вести при таких силах тока,, которые лежат ниже порога раздражения. Как известно по закону Нернста сила тока, вызывающего пороговое раздражение E

$$E = K/\sqrt{t}$$

увеличивается с частотой. То-есть, чем выше частота тока, тем более сильный ток можно пропускать безвредно через ткани организма. Поэтому выгоднее пользоваться для изучения проводимости живых тканей токами с большой частотой, т.к. это значительно упрощает технику измерений. Токи, проходящие через ткань, могут быть при этом взяты такой силы, что можно для регистрации их воспользоваться сравнительно малочувствительными приборами /стрелочный гальванометр/. С другой стороны, нельзя увеличивать силу тока до такой степени, чтобы происходило заметное нагревание тканей.

Для измерения процессов поляризации, ^{при} каллоидно-химических изменений в клетках, конечно, нужно брать не радиочастоты, так как при этом будут полностью элиминированы поляризационные явления. Для наших измерений в этой области мы остановились на частоте 10000 периодов в секунду. При этой частоте можно совершенно безвредно пропускать через ткани токи силой до 10 мА на кв.сант., не вызывая явлений раздражения. Поляризационные же эффекты на этой частоте выражены в достаточной мере. Вторая частота, которую мы оперируем, ^{при} 10⁶ лежит там, где процессы поляризации полностью элиминированы.

Исходная причина.

Большое значение при измерении электропроводности имеют электроды. Причина незакономерных колебаний проводимости, невоспроизводимость результатов в большинстве случаев лежит в несовершенстве электродов. Особенно большие ошибки возникают вследствие того, что при измерениях очень трудно обеспечить точность прилегания электрода к объекту. Вопросы касания электродов являются источником больших погрешностей даже при измерениях кристаллов и диэлектриков; в еще большей мере это относится к биологическим тканям, где поверхность неоднородна и не может быть сделана однородной. Кроме того те приемы, которые применяются обычно для создания более надежного контакта, в отношении биологических тканей зачастую недопустимы. Нельзя, например, пользоваться жидкими ртутными электродами, т.к. они могут оказаться источником отравления. Нельзя накладывать электроды под давлением, так как при этом нарушаются физиологические процессы. Смачивание электродов солевыми растворами часто вызывает большие погрешности вследствие пространственного растекания. В тех случаях, когда электрод может быть фиксирован без изменения положения в течение всего опыта, продолжающегося часами, эти трудности отпадают, т.к. площадь касания в течение всего опыта остается неизменной. Эту неизменность очень трудно сохранить в том случае, если измерение электропроводности происходит на живом объекте. Электроды приходится снимать и ставить вновь. При этих условиях не удастся получить каких-либо закономерных данных. Для этого случая, наиболее важного и интересного при наших исследованиях, мы разработали но-

вый прием. Мы решили выразить электропроводность тканей не в виде абсолютных цифр, а в виде соотношения проводимостей на двух каких-либо частотах. Как уже указывалось выше, электропроводность биологических тканей закономерно изменяется с частотой /рис. X / и ее проводимость, связанную с поляризацией, можно охарактеризовать крутизной падения этой кривой. Для характеристики биологических клеток вполне достаточно взять две точки - одну в области высокочастотной проводимости там, где поляризационные явления уже исчезают; другую в области низких частот. Величина отношения этих двух проводимостей служит характеристикой поляризационных свойств клетки.

Практически мы пользовались отношением сопротивления, измеренного на частоте 10.000 пер. в секунду к высокочастотному.

$$K = \frac{R_{10^4}}{R_{10^6}}$$

7

Для мертвых тканей величине $K = 1$. В живых тканях величина K больше 1. Вводя вместо абсолютных цифр отношение проводимостей мы элиминируем неточности прилегания электродов. Величина коэффициента K не будет зависеть от площади электродов, несмотря на то, что абсолютные величины R_{10^4} и R_{10^6} при этом будут изменяться.

Таблица

Площадь э.....	Печень	Кожа	Мышцы
	K		
1 кв. см	8,3	5,4	7.1
0,5 кв. см.	8,2	5,65	7
0,3 кв. см.	8,1	5,4	7

На таблице 3 мы даем величины коэффициента K для 3-х площадей электродов. Строго говоря, при этом некоторые различия будут в результате т.н. краевого эффекта, но погрешности при этом не будут превышать 3%. Это очень мало, принимая во внимание, что изменения электропроводности при отмигании порядка несколько сотен процентов. Величина коэффициента K оказывается очень стабильной величиной для данной ткани и может ее характеризовать. Для некоторых органов и тканей эта величина достигает максимума $K = 8,9$. У некоторых так, например, роговице⁶⁶ - она падает до 2-2,3. Величины коэффициентов K для различных тканей свежесобитого кролика нами были измерены и приведены в таблице на стр. 23

Падение величины коэффициента показывают нам наличие процессов распада. Значения, близкие $K = 1$ показывают, что ткань окончательно погибла. Четкость и простота определения этих коэффициентов позволяет легко и быстро определить степень жизнеспособности тканей и открывает перспективы для применения этого метода при оценке жизнеспособности трансплантационного материала.

Для задач, поставленных в настоящем исследовании, ^{этой} ~~метод~~ ^{оказался} ~~очень~~ удобным и позволил нам получить ^{очень} четкие данные независимо от тех искажений, которые обычно вносятся случайными повреждениями или загрязнениями поверхностных слоев.

В тех случаях, когда это было возможно, мы удерживали электроды на месте в течение всего опыта. При измерении проводимости кожи мы столкнулись в некоторых случаях с трудностью абсолютизировать полученные данные. Эти трудности воз-

ничают вследствие наличия наружного слоя, состоящего из мертвых ороговевших клеток. Величина проводимости этого слоя подвержена незакономерным случайным изменениям. В сухой нормальной коже этот слой обладает ничтожной проводимостью и может даже рассматриваться, как изолятор. Электрический ток поэтому не идет по поверхности кожи. Мы можем себе представить грубо схематично кожу как трехслойную схему, где слой α - роговой слой кожи, в более глубокие слои

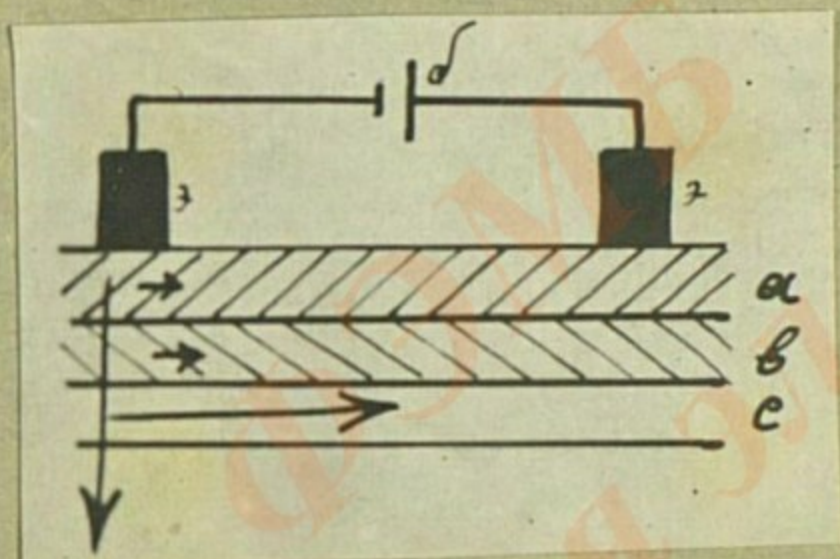


Рисунок 16

эпидермиса, γ - слой, в которых проходят капилляры. Путь тока нормально при наложенных тангенциально электродах рисуется следующим образом /см. рис. 16/. Силы тока, проходящие через ткани, обозначены стрелками. Сила тока, проходящего через поверхностный слой, ничтожно мала. Ток преодолевает этот слой вертикально (см. рисунок) как емкостное сопротивление и главным образом проходит по глубоким слоям кожи и подкожной клетчатки. Проводимость этих нижних слоев очень велика в силу наличия большого количества межклетников и капилляров. Вследствие этого, обычно, при измерении электропроводности кожи при помощи низких частот,

мы получаем независимость сопротивления *от расстояния* электродов. Это следует из того, что главное сопротивление вертикальное. Картина проводимости может сильно исказиться, если в результате, например, потения поверхностный слой станет проводящим.

Исключить это явление нельзя, но учесть необходимо. В этом случае влияние поверхностной проводимости можно учесть следующим приемом. Нормально на коже с сухой поверхностью расстояний электродов друг от друга не оказывает влияния на проводимость. Это происходит вследствие того, что при измерении проводимости кожи фактически определяется вертикальное сопротивление, т.к. через поверхность практически ток не идет. Если поверхность делается проводимой, то расстояние должно сказываться на результатах. В случае наличия ощутимой поверхностной проводимости два последовательных измерения, сделанные на низкой частоте при различном /двойном/ расстоянии электродов друг от друга дадут различные результаты. Отсюда может быть найден проводимость рогового слоя.

$$2R_1 - R_2 = R_k$$

R_1 - перв. изм.
 R_2 - втор. изм.
 R_k - вертик. сопр.

Электроды в большинстве случаев были ^иполяризующиеся, жидкостные и только в некоторых случаях применялись платиновые гладкие.

Для определения электропроводности биологических тканей обычно применяются мостовые методы. Как известно, в классической схеме моста Уитстона, состоящего из омических сопротивлений /см. рис. /*17*/

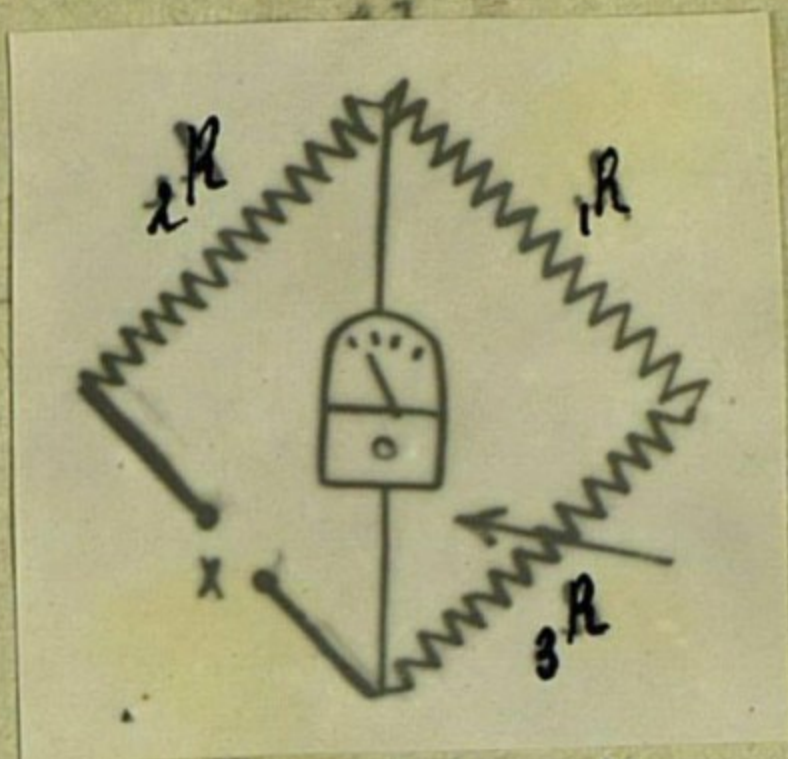


Рисунок. 17

условие равновесия определяется соотношением

$$\frac{R_1}{R_2} = \frac{R_3}{X}$$

откуда определяется X

Это условие равновесия в одинаковой мере относится как к постоянному, так и к переменному току в случае, если мост построен из чисто омических сопротивлений.

Это условие не удовлетворяется в том случае, если в результате наличия емкостных сопротивлений в мосту происходит сдвиг фаз.

Если в первом случае чисто омического моста равновесие наступает только в том случае, когда ветвь R_2 и X находятся под одинаковым напряжением и в случае же наличия емкостного и омического сопротивлений равновесие наступает только тогда, когда в ветвях R_3 и X будут одинаковы и напряжение и величины угла сдвига фаз. Если, например, ввести в ветвь моста параллельно сопротивлению R_3 емкость, то в плече X будет происходить сдвиг фаз, который не уравновешивается соответственным сдвигом фаз в другом плече. В связи с этим гальванометр, стоящий в нулевой цепи, ни при одном положении движка не покажет полного отсутствия тока, а только минимальное его значение. Так как в биологических объектах наблюдается сдвиг фаз, то для компенсации его в

плече R_3 необходимо ввести также емкость и путем подгонки емкости и сопротивления добиться одинакового сдвига фаз в обоих плечах. В мостах, предназначенных для измерения емкостно-омического сопротивления условия равновесия достигаются в том случае, если соотношение сопротивлений будет равно соотношению импедансов в цепи

$$Z_1 : Z_2 = Z_3 : Z_4$$

В простейшем виде мост обычно построен по следующей схеме

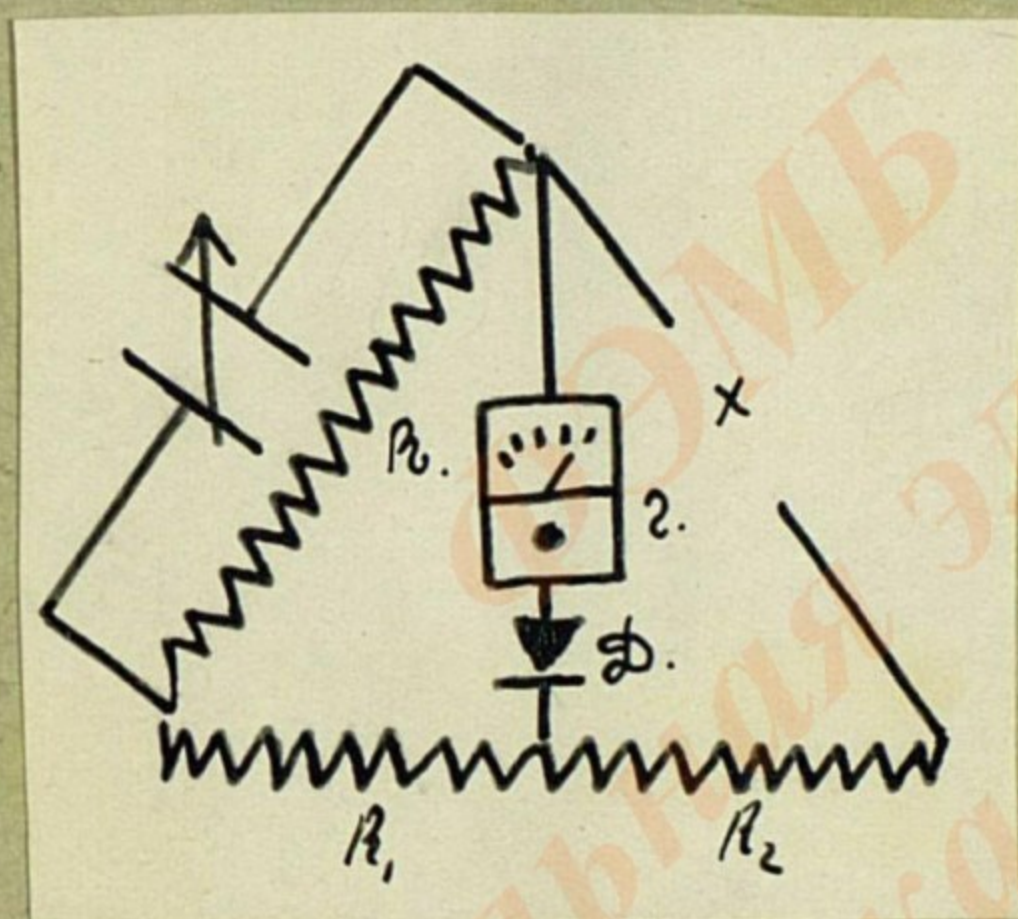


Рисунок. 18

При уравнивании моста необходимо менять оба параметра, т.е. емкость и сопротивление. Как уже указывалось выше, мост для измерения электропроводности живых биологических объектов, согласно поставленной нами задачи, должен работать в широком диапазоне частот, т.е. показания должны быть одинаковыми в этих пределах, а решение этой задачи представляет значительные трудности. Первая основная трудность заключается в том, что обычно применяющиеся в мостах звуковой частоты проволочные сопротивления обладают, помимо сопротивления, еще самоиндукцией и емкостью. Применением

различного типа обмоток удастся обычно скомпенсировать эти элементы. Однако, все же такие скомпенсированные сопротивления по типу Шалперона и Аиртока уже плохо работают на повышенных звуковых частотах и абсолютно неприменимы для высоких радиочастот. В связи с этим мы остановились на двух типах сопротивлений.

Первый тип - линейное проволочное сопротивление, представляющее из себя прямолинейный отрезок тонкой проволоки, припаянной к двум крышкам из толстого медного провода.

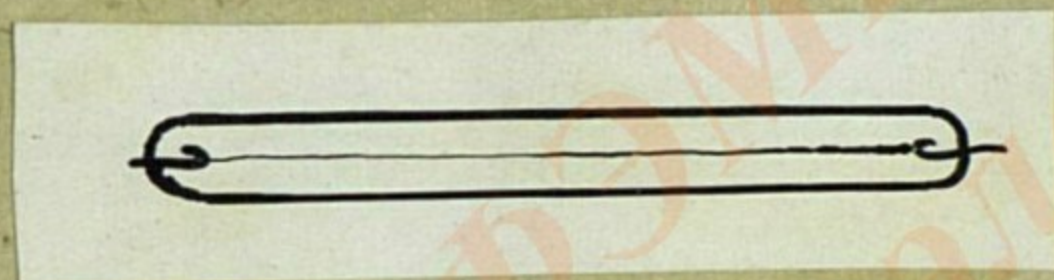


Рисунок 20

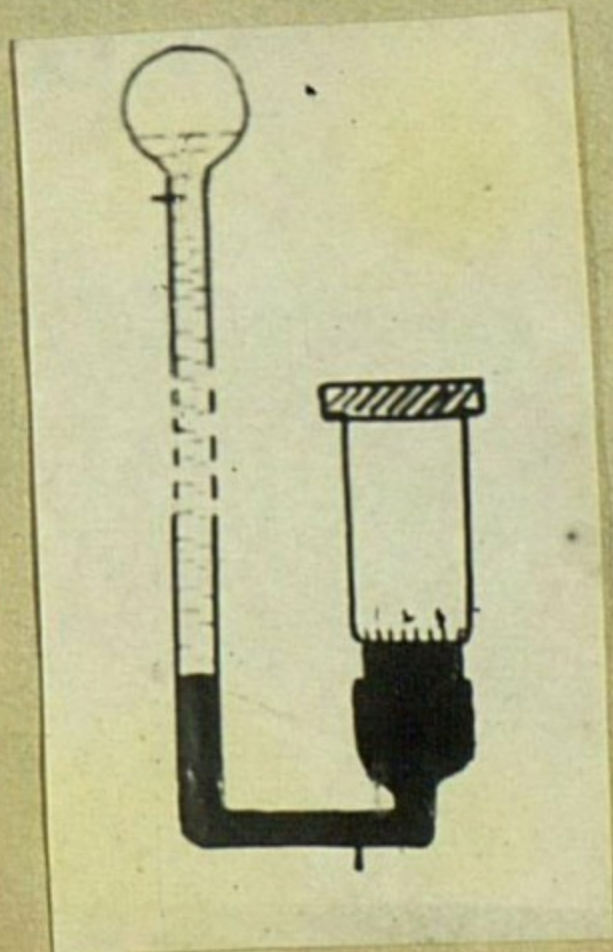
Для защиты ~~от~~ от механических повреждений проволока помещается в стеклянную трубку. В качестве материала для сопротивления берется тонкая платиновая проволока 0,02 ~~мм~~ диаметром. Эти сопротивления можно считать практически безреактивными. Их сопротивления не будут точно совпадать на постоянном токе и высокой частоте, вследствие того, что переменное магнитное поле вызывает внутри проводника вихревые токи, направленные навстречу производящему

их току. В результате этого ток по сечению проводника распределяется неравномерно и при увеличении частоты оттесняется в периферии проводника, толщина провода как бы уменьшается и сопротивление при нарастании частот возрастает (скин-эффект.)

Величина изменения сопротивления в первую очередь связана с диаметром провода. При тонких проводах порядка 0,1 мм и ниже отношение $\frac{R_{\infty}}{R_{н.г}}$ никогда не бывает больше 1,02 т.е. погрешности величины сопротивления измеренной на постоянном токе не превышает 2% при измерении его токами 10^6 пер. в секунду. Постоянство сопротивлений этого типа *велико, и они*

вполне применимы при измерении сопротивления живых тканей

Для наших целей они являются идеальными и могут быть использованы в качестве постоянных сопротивлений. Переменные, плавные сопротивления этого типа, по чисто техническим причинам, осуществить невозможно. Поэтому в качестве безреактивных переменных сопротивлений мы взяли жидкостные сопротивления. В качестве такового нами взят насыщенный раствор азотнокислой закиси ртути в трубке замкнутой ртутным ~~жидким~~ столбом. Перемещение ртутного столба производится при помощи железного винта с делениями на головке.



Звук

Обычно приходится пользоваться такими сопротивлениями, из которых одно имело 1000 ом, другое порядка 5.0000 ом. Второй важный момент схемы - указатель нуля. Первое условие, которое предъявляется нулевой цепи - это максимальная чувствительность. Эта максимальная чувствительность достигается в том случае, если суммарное сопротивление нулевого прибора равно

$$J = \frac{(J_1 + J_2)(J_3 + J_4)}{J_1 + J_2 + J_3 + J_4}$$

J_1, J_2, J_3, J_4 - сопротивления плеч моста

В качестве нулевого прибора обычно применяется телефон. Хотя телефон дает довольно высокую чувствительность 10^{-6} А и очень прост и удобен, тем не менее он вытесняется другими приборами. Основным недостатком телефона является субъективность отчета. Обычно два человека, обладающие различным слухом, получают при помощи телефона различные результаты в силу того, что человеческое ухо обладает резко выраженной частотной избирательностью. Помимо этого, сама мембрана телефона обычно резонирует на некоторые частоты. Поэтому чувствительность телефона обычно резко меняется с частотой, как это видно из таблицы, где даны чувствительности телефона Сименса Гальске в пределах звуковых частот и ясно показано в каких огромных пределах меняется чувствительность.

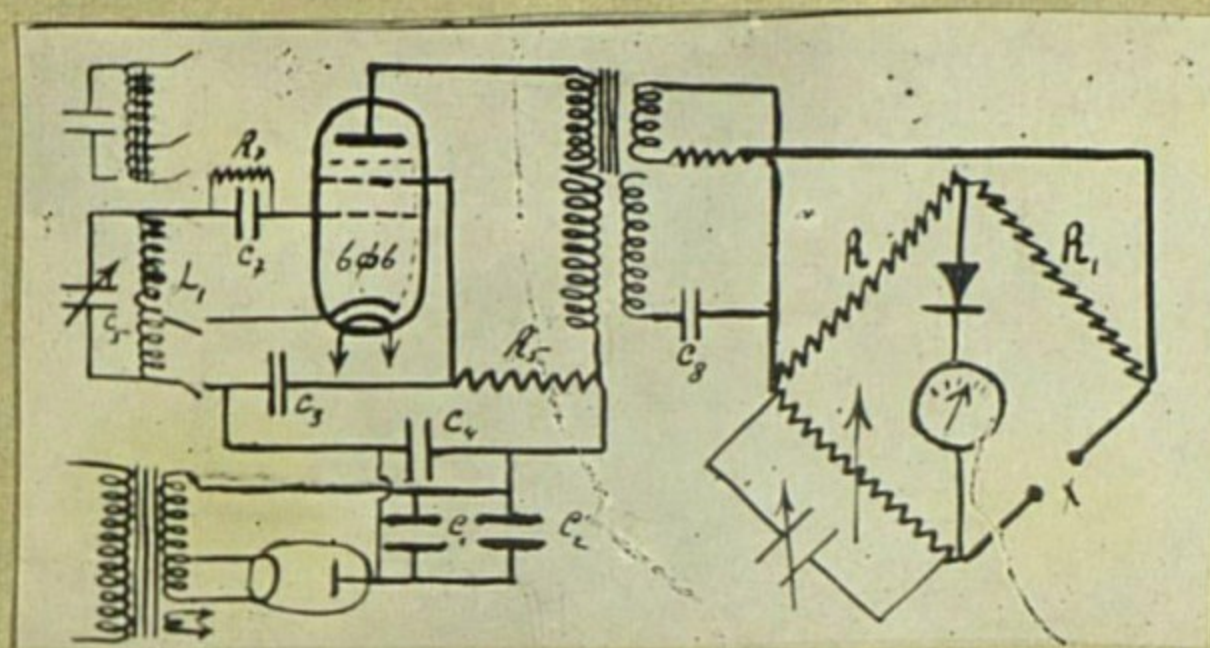
Т а б л и ц а .

64	128	256	522	720	1024	1500
12	1,5	0,135	0,027	0,008	0,0135	0,024

при изменении частоты. Кроме того, при работе с телефоном большую роль играет частота синусоиды переменного тока, т.е. наличие гармоник других частот. В момент компенсации основной частоты эти гармоники скомпенсированы не будут, следовательно звук в телефоне не прекратится, а только ослабеет. Иногда, даже возможно при условии, если сопутствующая гармоника лежит в области резонанса, кажущееся усиление звука в точке минимума.

В качестве нулевого прибора, мы применили гальванометр последовательно соединенный с выпрямителем. Выпрямителем служил ~~дополнительный~~ купроксидный детектор. Удобство заключается в том, что этот указатель нуля может работать, как на высоких, так и на низких частотах. Мы пользовались зеркальным гальванометром чувств 10^{-8} . Включался этот гальванометр с детектором в *нулевую* цепь через трансформатор, этим устранялась возможность появления слагающей постоянного тока в мосте. Для низких частот, мы пользовались трансформатором с железом. Для высоких частот - воздушным. Сопротивление первичной обмотки ~~много~~ удовлетворяло уравн. 9

Общая схема установки, которую мы сконструировали для этой цели показана на рис. 22



р 22

Отдельные элементы моста хорошо заэкранированы, Это основное условие для бесперебойной работы на высокой частоте. В нулевой цепи 2 трансформатора, один для низкой, а другой для высокой частоты. Параллельно переменному сопротивлению подключен магазин емкостей.

Питание моста осуществляется от генератора с электронной связью построенного на лампе 60 122. Генератор подобного типа очень удобен для питания мостов, т.к. режим генерации его почти не зависит от нагрузки. Генератор имеет два независимых контура, один из них настроен на частоту 10^4 , другой 10^6 . При помощи переключателя генератор сразу может быть переведен с низкой частоты на высокую.

Основное условие правильной работы моста - равноценности измерений на звуковой и высокой частоте. Путем подгонки элементов схемы, расположением деталей, мы добились того, что разница показаний для раствора электролита на низкой и высокой частоте не превышала 2%.

Определение электропроводности производилось следующим образом. На испытуемый объект накладывались электроды пластинчатой формы в тех случаях, когда мы определяли электропроводность изолированных тканей, и жидкостные в тех случаях, когда определения велись на коже.

Первое определение проводилось на звуковой частоте. Компенсация тока в нулевой цепи достигается при помощи жидкостного сопротивления и более точно при помощи емкости. После этого генератор переключается на высоко-частотный контур. Компенсация в этом случае производится только при помощи жидкостного сопротивления (емкость отключается).

Электропроводность тканей при действии асептических
воспалительных агентов.

К выстриженной поверхности на бедре кролика прижимался тампон обильно смоченный скипидаром и удерживался на коже в течение 30 минут. После этого смоченное место просушивалось и к нему прижимались два жидкостных электрода. Эти электроды оставались фиксированными в течение всего опыта.

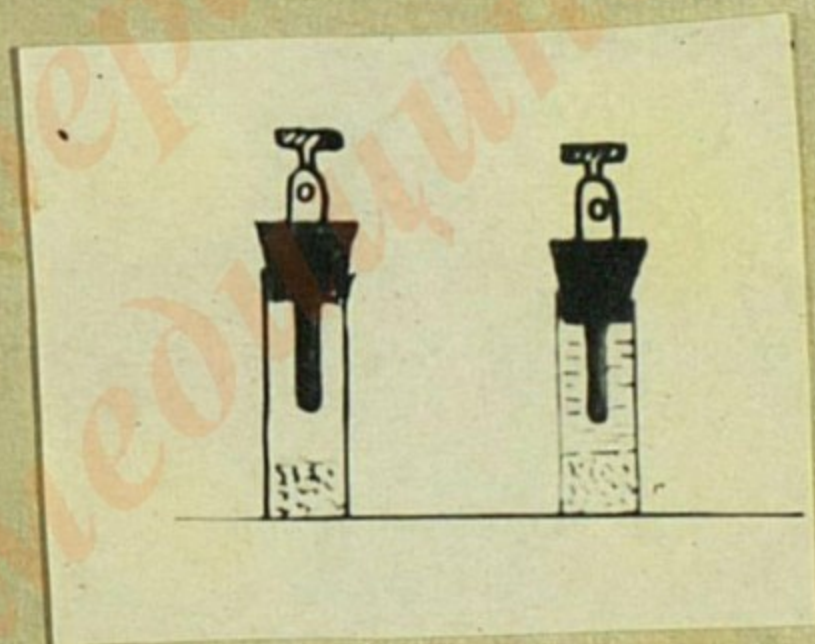


Рис 23

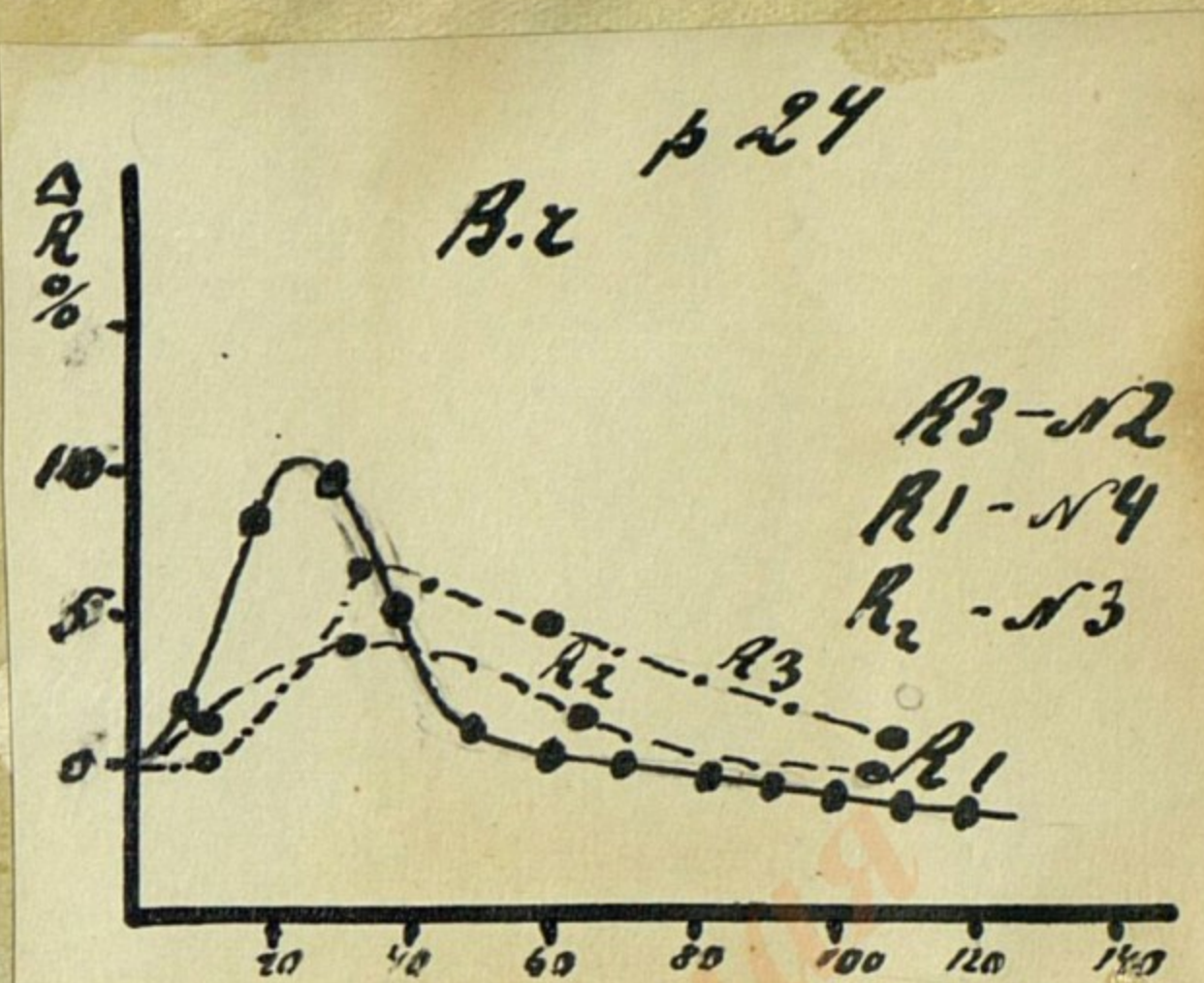
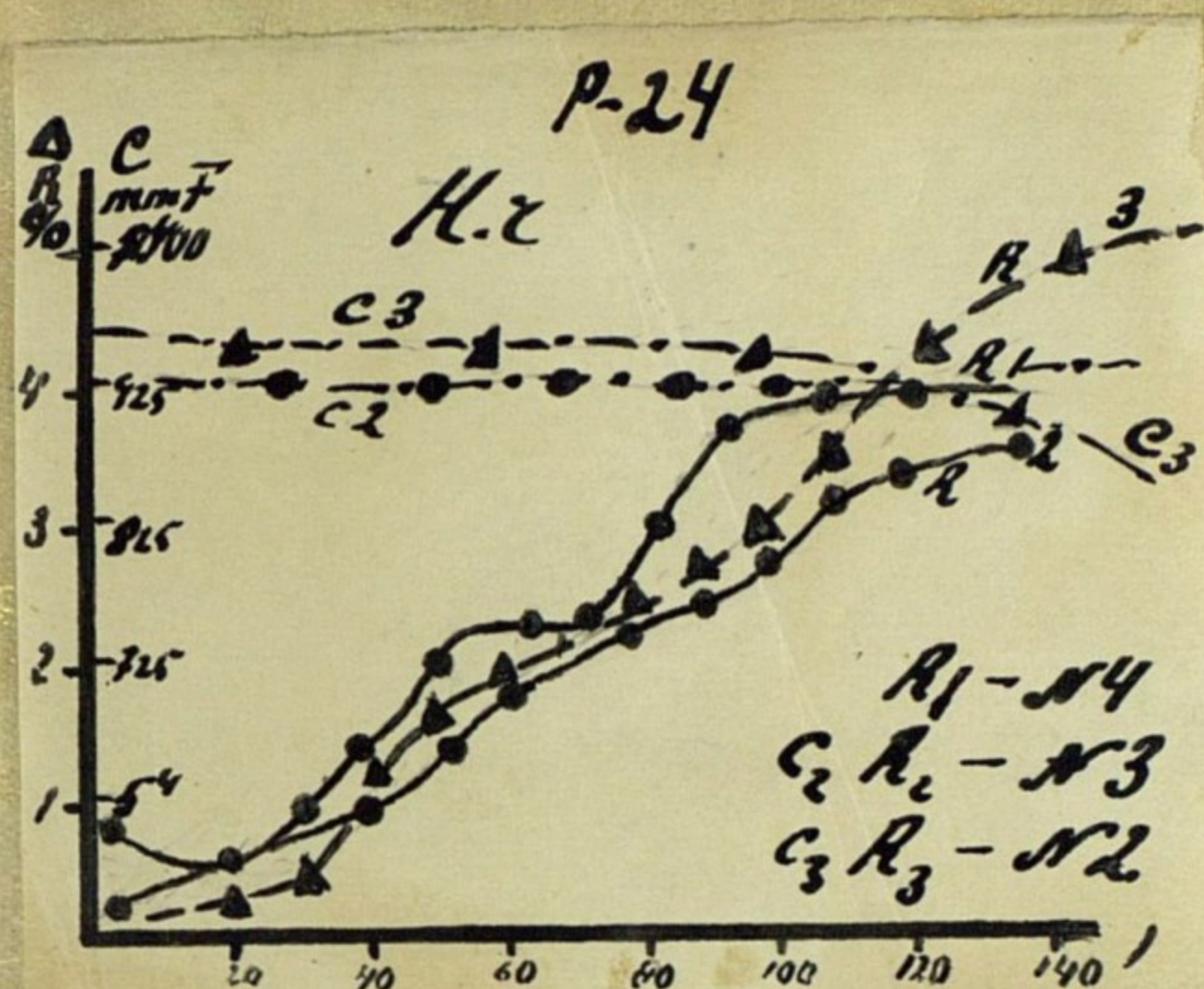
На с. 4 приведены единицы измерения высокочастотного и низкочастотного сопротивления.

Т а б л и ц а опыта $\frac{3}{4}$ 38 №4

№. Бедра

Спина

Время	Сопротивление				Сопротивление	
	Н. ч.	В. ч.	Н. ч.	В. ч.	Н. ч.	В. ч.
	10^4	10^6	10^4	10^6	10^4	10^6
0	2420	340	1960	280	3120	390
10	2400	345	1950	280	3100	415
20	2390	362	1945	278	3105	427
30	2390	377	1935	275	3140	405
40	2395	382	1930	273	3160	390
50	2405	320	1920	271	3185	390
60	2440	340	1925	270	3190	383
70	2490	342	1920	268	3190	380
80	2500	345	1920	265	3220	380
90	2505	340	1910	263	3250	375
100	2525	333	1900	260	3255	373
110	2545	330	1895	260	3260	373
120	2575	330	1890	257	3255	375
130	2620	328	1890	254	3255	372
140	2625	325	1895	252	3260	-
150	2600	325	1890	250	3260	-
160	2590	326	1890	250		



Рассматривая полученные данные под углом зрения, который мы изложили (на стр. 29, 31), мы должны прийти к выводу, что изменения электропроводности показывают наличие какого-то химического активного процесса, который возникает в тканях при действии на них скипидара. Под действием скипидара изменяется вполне закономерно высоко-частотная проводимость. Вначале она падает, через 50-60 минут приходит к норме и потом повышается. Изменения высокочастотной проводимости говорят нам о том, что количество свободных ионов в протоплазме меняется. Эти последовательные закономерные изменения не могут происходить вследствие перераспределения ионов, а только в результате каких-то химических превращений, в которых свободные ионы играют непосредственную роль.

Изменения сопротивления на звуковой частоте, вернее сказать, соотношение между низкочастотным и высокочастотным сопротивлением, говорит нам о том, что набухательная способность клеток - повысилась, т.е. нарастание сопротивления не сопровождается параллельным нарастанием емкости. Повышение набухательной способности продолжается в течение от одного до полутора часов и удерживается довольно долго на одной высоте.

Весьма характерно, что нарастание набухательной способности протекает в виде ступенчатого процесса.

На основании этих опытов, у нас возникло предположение, что эти физико-химические изменения, которые мы констатируем на коже, отражают кинетику первичной реакции, возникающей в клетках под действием воспалительного агента, той реакции, которая лежит в основе развития воспалительного процесса. При этом возникал вопрос будут ли вызывать аналогичную реакцию другие воспалительные агенты, например, кротонное масло.

Кротонное масло, мы вводили не инъекцией, как это обычно делают, а смазывали кожную поверхность кротонным маслом. После тридцати минутного действия кротонное масло снималось и производились определения. Следует отметить, что воспалительные явления при таких кожных аппликациях получаются, хотя выражены они слабее, нежели при инъекциях.

Результаты исследования показывают, что характер изменений проводимости такой же, как и при действии скипидара.

Такой же процесс изменения проводимости мы получаем при действии горчичного масла

Т а б л и ц а

Время в мин.	Крот. масло сопротивление		гор. масло сопротивление	
	Н.ч.	В.ч.	Н.ч.	В.ч.
0	1770	243	1680	210
10	1710	248	1650	217
20	1700	248	1630	220
30	1700	252	1670	221
40	1700	256	1690	220
50	1820	253	1700	216
60	1830	252	1695	211
70	1855	250	1715	206
80	1855	250	1730	206
90	1875	245	1735	205
100	1900	242	1730	205
110	1900	240	1730	204
120	1870	240	1725	205
130	1875	241		204
140				

Изменения электропроводности, которые мы наблюдаем при действии вышеуказанных факторов, ~~происходят~~ крайне своеобразны. Во всех изученных нами случаях повышение низкочастотного сопротивления протекает в виде двух последовательных ступеней. Двухступенчатый ход кривой говорит нам о том, что под влиянием воспалительных агентов в тканях происходят два последовательных, связанных друг с другом процесса, это подкрепляется тем, что изменения высокочастотной проводимости также слагаются из двух фаз.

Первая фаза увеличения низкочастотного сопротивления сопровождается уменьшением количества свободных ионов. Вторая фаза сопровождается некоторым увеличением их.

Мы изучили для сравнения ряд различных веществ, преимущественно тех, которые быстро проникают внутрь и принадлежащих по характеру действия к различным группам (аммиак, эфир, хлороформ, метил амин,)

Эти вещества в большинстве случаев изменяют проводимость кожи, однако характер этих изменений - (форма кривой) ~~имеет~~ другой ~~характер~~.

На рисунках приведены результаты этих наблюдений.

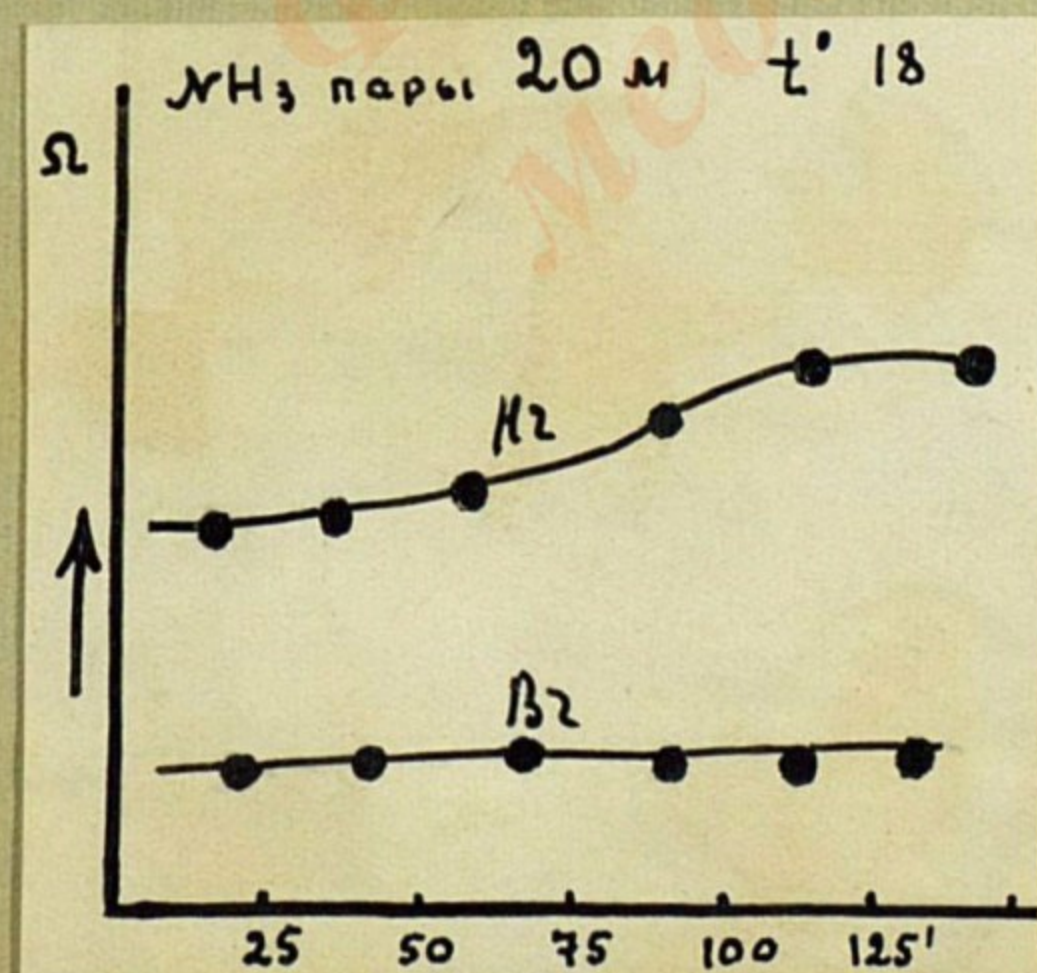


рис 25

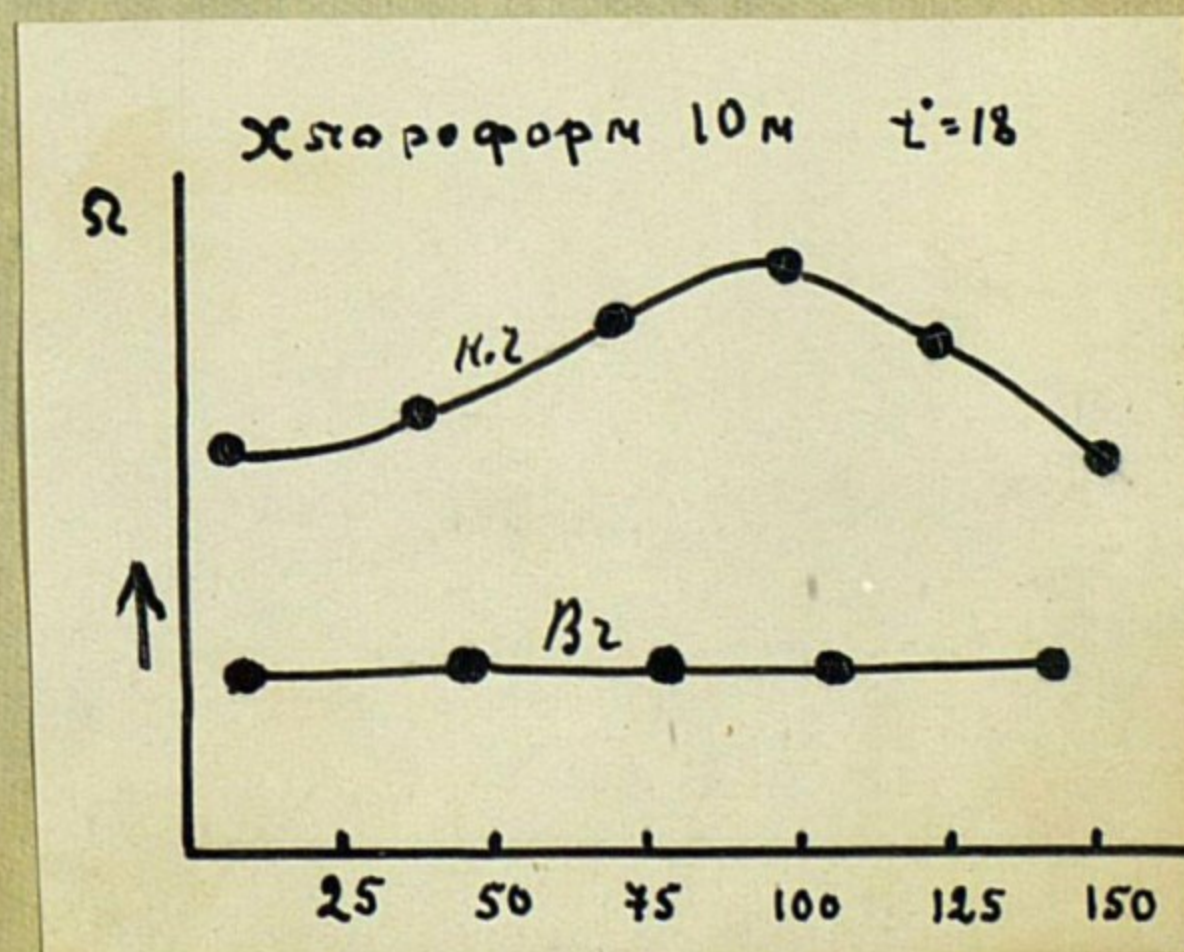


рис 26

В большинстве случаев (аммиак, эфир), эти факторы вызывают ~~увеличение~~ сопротивления. Иногда это ~~увеличение~~ переходит в падение ~~тока~~ (хорошо). Во всех случаях изменения протекают плавно и мы не наблюдаем при этом каких либо заметных колебаний высокочастотной проводимости, которые коррелировали бы с изменениями низкочастотной кривой.

Наши наблюдения заставляли предполагать, что химическая реакция, которая возникает в тканях под действием воспалительного агента специфична и что это та реакция, которая лежит в основе воспалительного процесса. На основании полученных результатов, мы можем сказать, что воспалительные асептические агенты вызывают своеобразную реакцию, что эта реакция сопровождается изменением набухательной способности клеток и изменением количества свободных ионов в протоплазме.

Первый вопрос, который рождается при этом, какова кинетика этой реакции. На этот вопрос ответа получить нельзя.

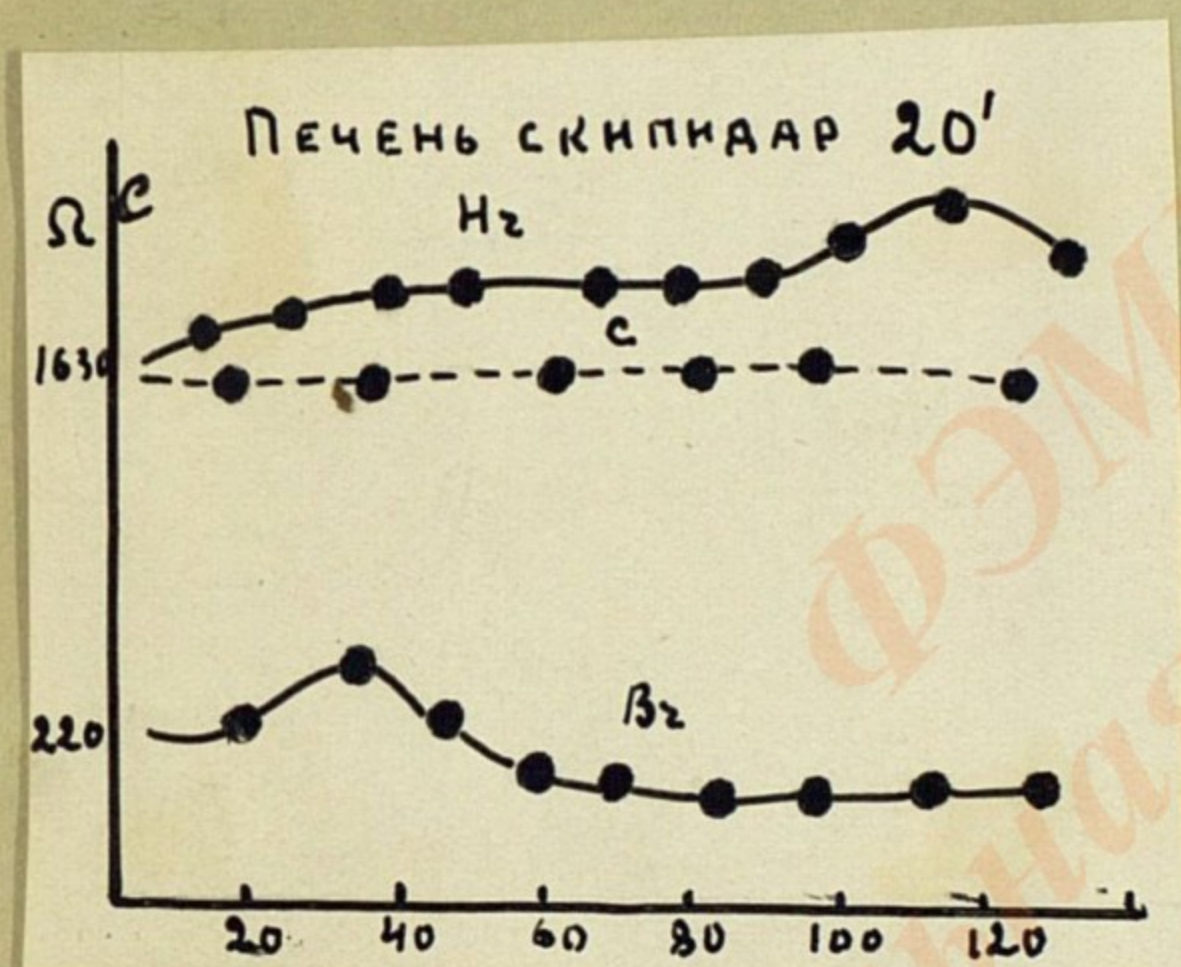
Изменения электропроводности хотя и отражают кинетику процесса, однако, в тканях целого животного явления электропроводности усложняются ~~присутствием~~ различных побочных факторов. (Влияние расширения капилляров, нервные импульсы и пр.) Поэтому количественный анализ полученных результатов не может привести к положительным результатам.

Поэтому возник вопрос об изучении воспалительной реакции (*in vitro*) на изолированных перезживающих тканях.

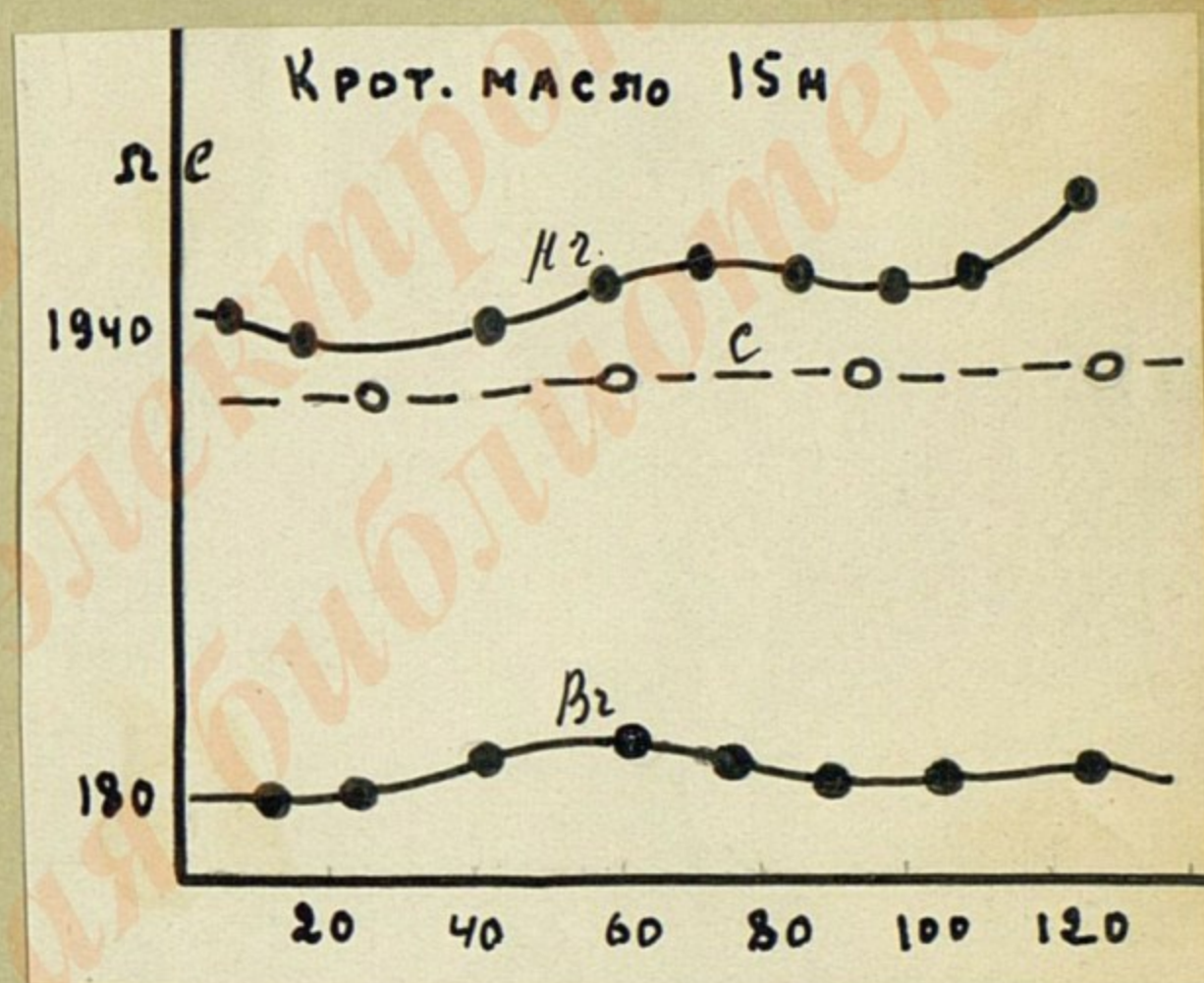
Мы пользовались вырезанными тканями кролика. Для опытов брались ткани с нормальным коэффициентом электропроводности (см. стр. 23)

Кусочки органов обрабатывались предварительно парами ски-

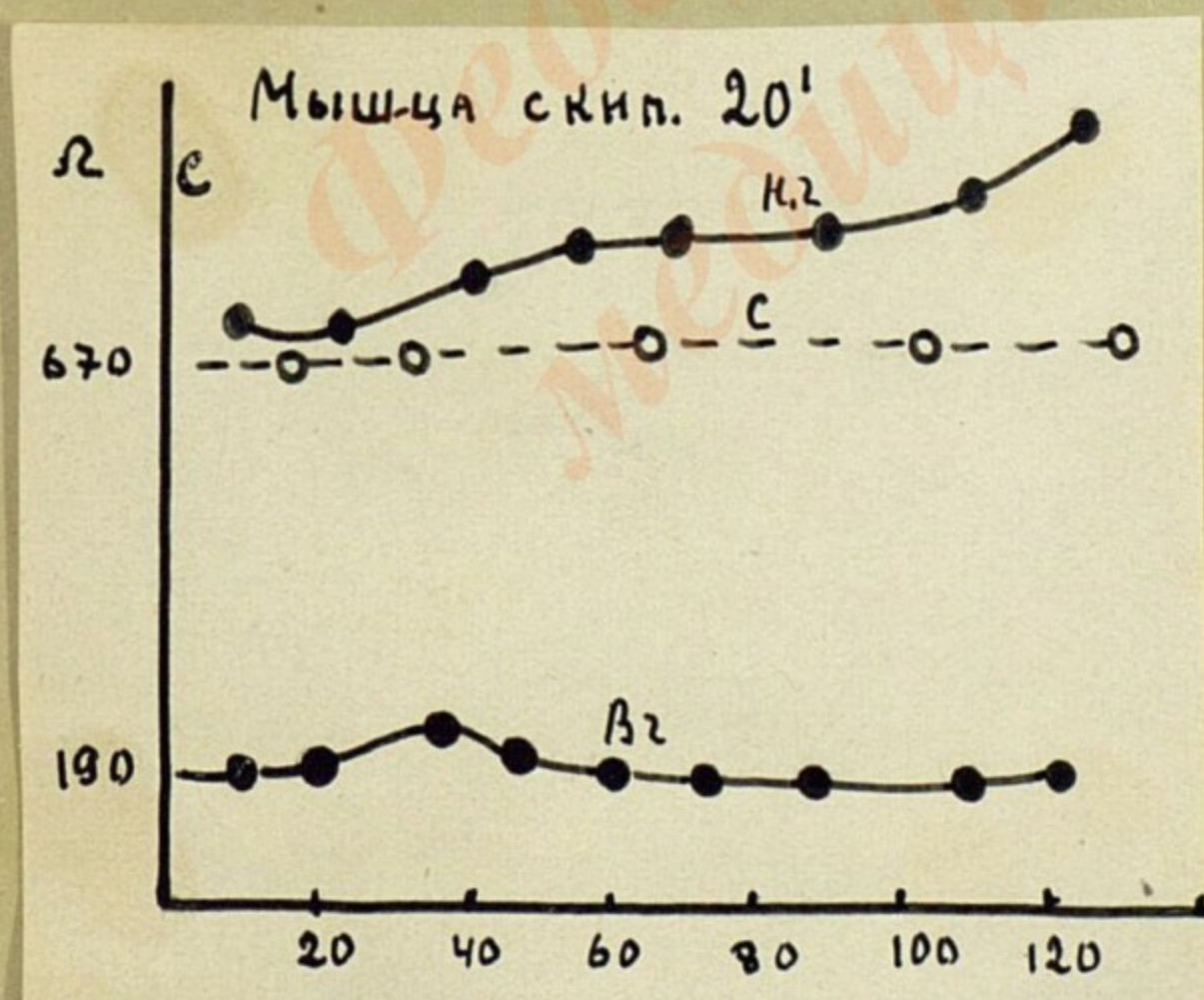
пидара, кротон. масла, ~~мимими~~, в течение 10-30 минут, после чего они переносились во влажную камеру, на дне которой укреплены пластинчатые электроды. Ткани (печень, мышца, кожа) клались на эти электроды неповрежденной поверхностью. Результаты наших исследований для различных тканей приведены на рисунках.



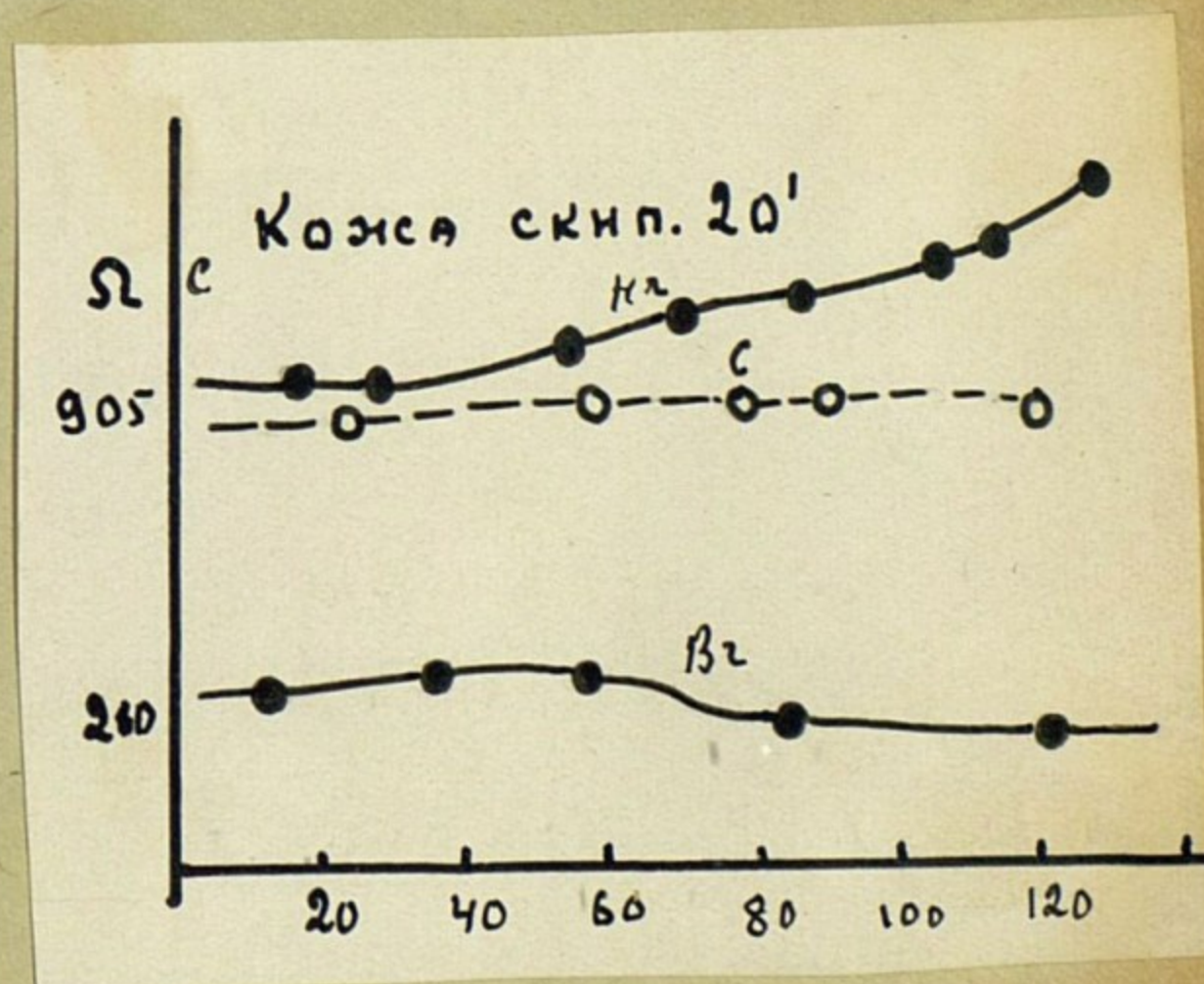
P.27



P.28



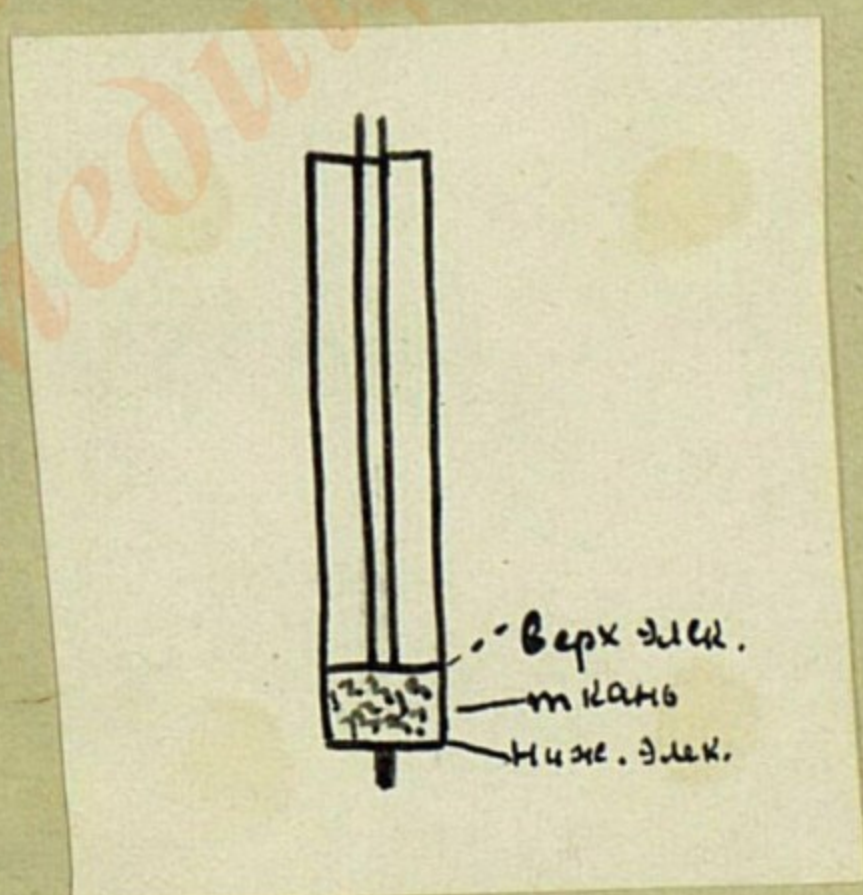
P.29



P.30

Низкочастотное сопротивление нарастает. Характер кривой этого нарастания такой же самый, как и при наших наблюдениях на целом животном. Величина коэффициента, т.е. разницы между низкочастотным и высокочастотным сопротивлением возрастает. Это говорит как будто о том, что поляризация ткани увеличивается. Если бы поляризация происходила вследствие увеличения количества поляризационных элементов в клетке, то одновременно должна была бы повышаться емкость. Однако, это не наблюдается (рис. 27, 28, 29, 30). Поэтому, мы вправе считать, что наше первоначальное предположение о природе повышения низкочастотного сопротивления подтвердилось, т.е., что повышение сопротивления происходит не вследствие увеличения поляризуемости клетки, а вследствие набухания клеточных элементов. Повышение набухательной способности клеток может возникнуть от того, что под действием воспалительного агента в протоплазме клеток произошло увеличение количества свободных ионов, т.е. увеличение осмотического давления. Это предположение нам приходится отбросить. Если бы повышение набухательной способности происходило за счет увеличения количества свободных электролитов, тогда при этом происходило бы нарастание высокочастотной электропроводности. Этого же на самом деле нет. Высокочастотная проводимость наоборот не увеличивается, а уменьшается. Поэтому остается только допустить, что повышение набухательной способности клеток происходит за счет высокомолекулярных веществ, т.е. за счет повышения сольватации белков, либо за счет распада и появления новых комплексов. При этом поступление воды в клетку должно

быть связано с количеством вновь образовавшихся веществ в том случае, если запас воды за счет которого набухает клетка будет большим. Так ^{как} единственным резервом для набухания является межклеточная жидкость и лимфа, то вполне понятно, что процесс набухания не может протекать до конца, т.к. при этом происходит сгущение и нарастание осмотического давления межклеточной жидкости. Кроме того клетки при набухании встречают чисто механическое противодействие. Именно поэтому кривая электропроводности очень усложняется. Анализ ее представляет большие трудности и вывести количественные закономерности не представляется возможным. Однако, хотя кинетические закономерности крайне запутаны, начальную точку реакции можно установить очень точно. По этой начальной точке можно определить температурный коэффициент реакции с достаточной достоверностью. Для этой цели кусочки тканей (печень) обработанные также, как и в предыдущих исследованиях помещались в сосуд, в дно которого впаяны электроды.



Сосуд погружался в водяной термостат с автоматической регулировкой температуры. Как известно влияние температуры на ход реакции может быть выражено след. формулой Аррениуса

$$K_1 = K_0 e^{\frac{M}{T_0 T_1}}$$

В которой T_1 и T_0 обозначают температуру считаемую от абсолютного нуля, K_0 скорость реакции при T_0 и скорость реакции при температуре T_1 , M константа характеризующая скорость реакции. Чем больше M , тем быстрее возрастает скорость реакции при повышении температуры.

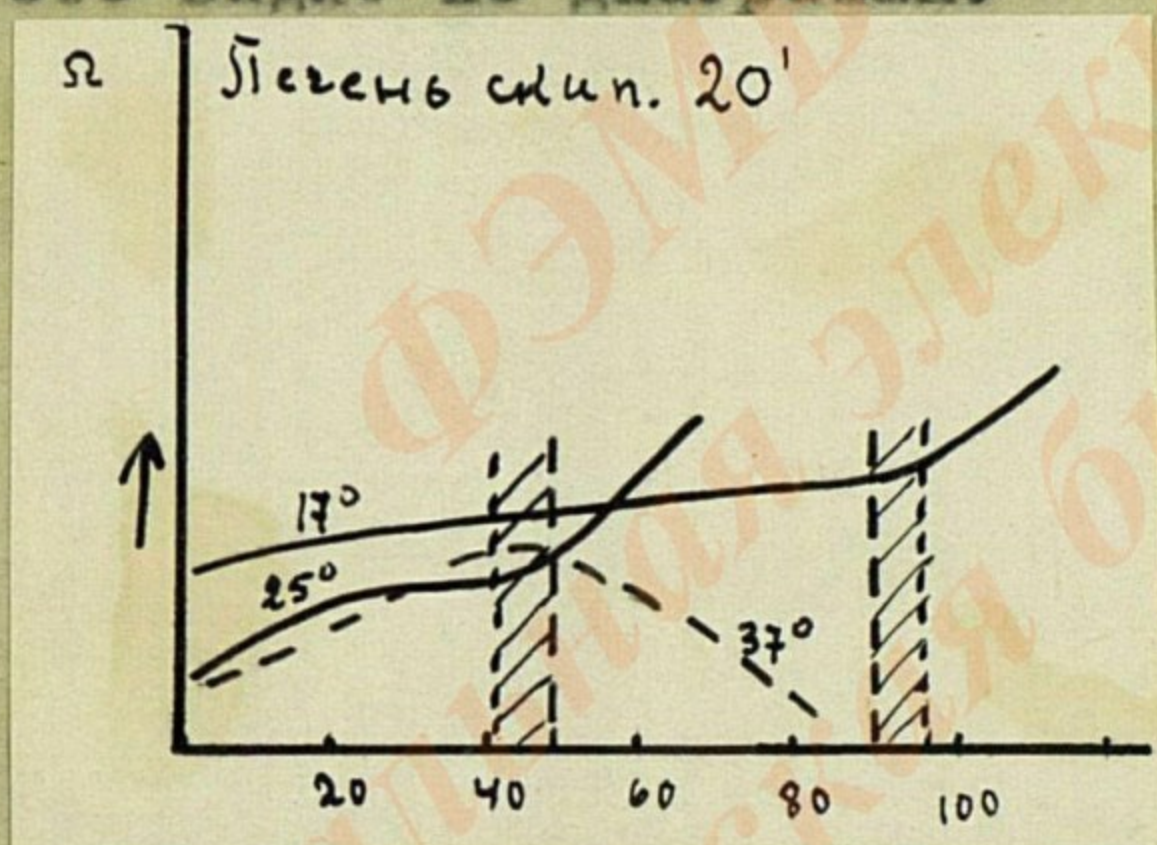
Величина M для различного типа химических реакций варьирует в пределах от 10000 - 20000 тысяч. Температурная константа имеет больше значения для процессов самопроизвольного разложения где ее величина при действии например мизиков на клетки достигает 162000. В случае гетерогенных реакций значение M порядка 4000 - 70000

Температурная константа очень важная величина, которая позволяет характеризовать данную реакцию, а также установить ее характер и степень сложности.

Если данная реакция проста, то при изображении логарифма скорости, как функции от $1/T$ получается прямая линия.

Если эта зависимость изображается ломанной линией, то наблюдаемая реакция носит сложный характер и состоит из двух или более реакций происходящих одновременно.

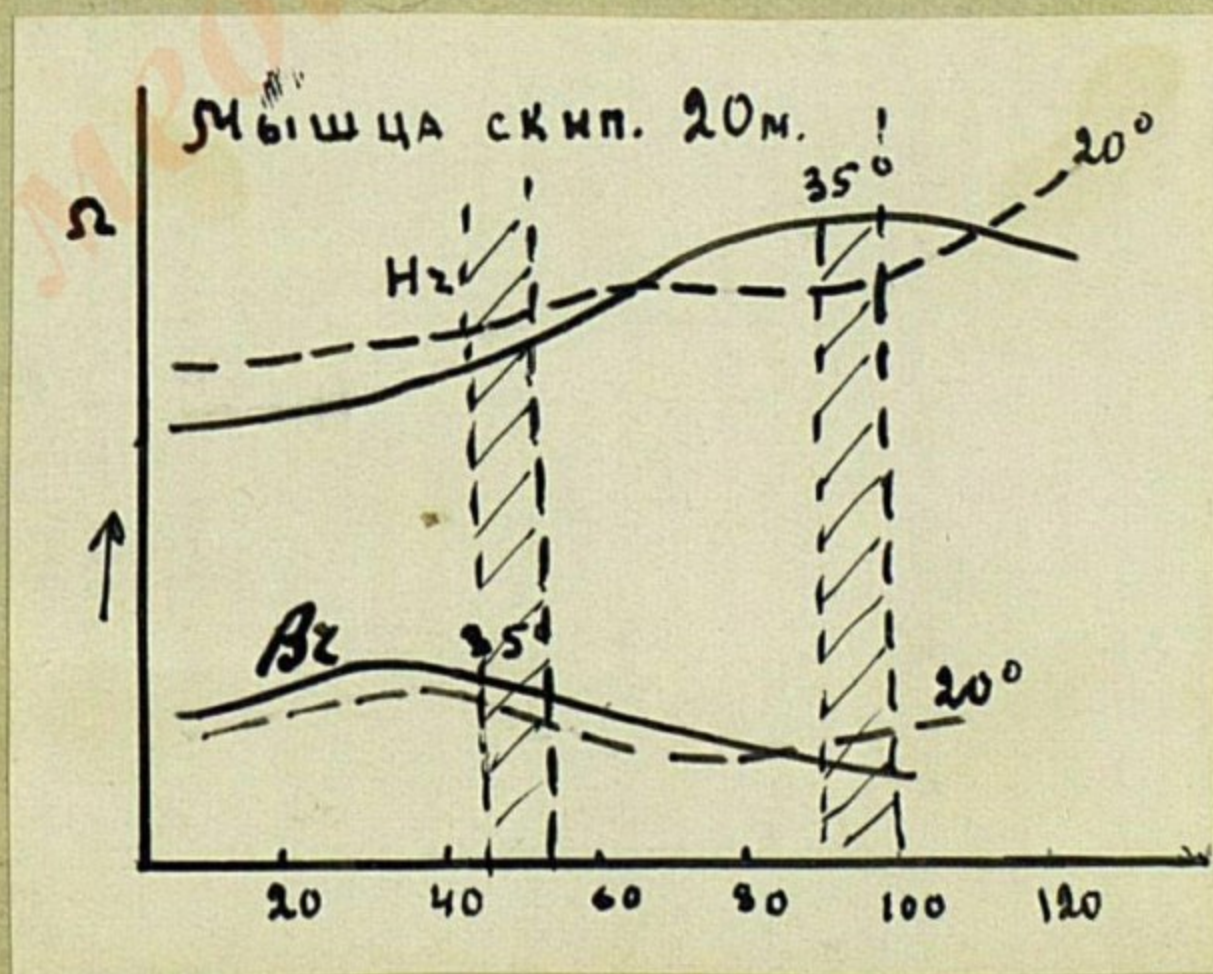
К Скорости реакции для процесса изменения электропроводности вывести трудно. Температурную же зависимость можно получить измеряя время, необходимое для получения известной стадии изучаемого процесса, например, время по истечении которого начинается данный процесс. Кривая низкочастотной электропроводности складается из двух ступеней, которые являются отражением двух реакций. Начало первой реакции установить трудно. Поэтому мы могли установить температурную зависимость только для второго процесса, начало которого определяется довольно точно, как это видно из диаграммы.



P.32

При повышении температуры реакция ускоряется.

Приблизительно 10^4



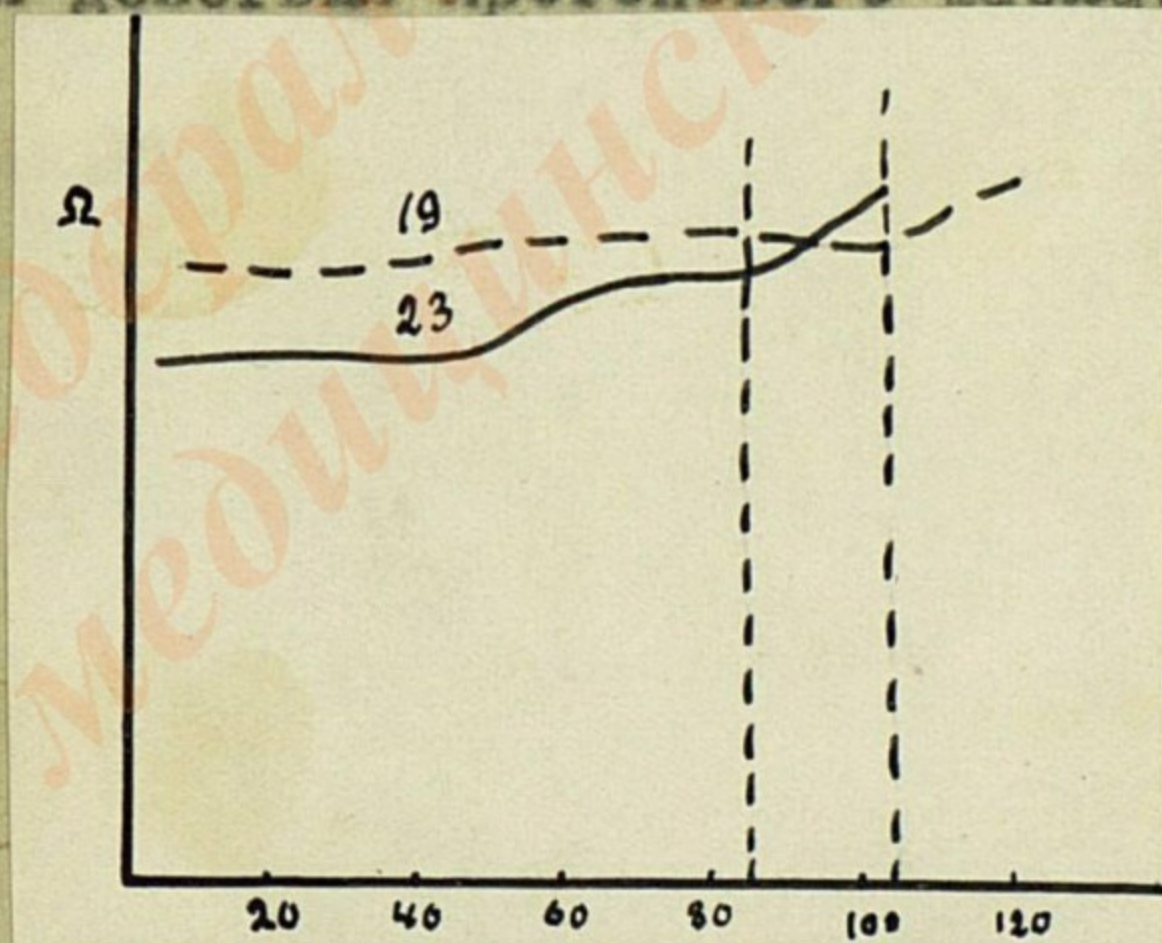
P.32

и Полученные нами данные говорят о том, что скачкообразное повышение сопротивления является отражением химической реакции, так, как при повышении температуры точка перелома закономерно перемещается влево. Переломная точка высокочастотной кривой при изменении температуры практически не сдвигается.

~~xxx dxxxxx~~. При более высоких температурах, кривая резко падает и теряет правильность хода, при этом отношение низкочастотной и высокочастотной проводимости падает. Значение коэффициента K падают с 7 до 4. 3. Это является показателем того, что в ткани начинается процесс отмирания, т.е. разрушения структуры.

В области температур 0.-37° коэффициент скорости реакции имеет значение порядка, т.е. величины, характерные для обычных химических реакций.

На диаграммах (33) даны изменения начала реакции во времени для действия кротонного масла.



Полученная нами диаграмма, оказывается аналогичной той, которую мы получили при действии скипидара. Величина ~~xxxxx~~ порядка 1.2000

Аналогия в температурной зависимости ясно говорит нам о том, что та реакция, которую мы улавливаем при действии скипидара

и реакция на кротонное масло одного и того же порядка. Это совпадение уже с большей долей вероятности позволяет нам утверждать, что улавливаемая нами реакция является основной первичной реакцией на воспалительный агент.

Измерения электропроводности позволили нам обнаружить в тканях при действии воспалительных агентов ряд закономерно протекающих процессов, которые мы интерпретировали под чисто физико-химическим углом зрения и убедились в том, что первичная воспалительная реакция протекает одинаково на коже

животного, так и на органах взятых *in vitro*. В этом заключается основная ценность метода электропроводности, как единственного аналитического приема при помощи которого можно перекинуть мост от целого организма к опытам на переживающих тканях.

Подводя итоги, можно приблизительно нарисовать следующую картину тех физико-химических процессов, которые происходят в клетках. Под действием воспалительных агентов в клетках начинается реакция, сопровождающаяся увеличением набухательной способности, с одновременным уменьшением количества свободных ионов. Повидимому, в этой фазе не приходится говорить о возможности появления ацидоза. Продукты, образовавшиеся при этой реакции создают условия для возникновения второй реакции, сопровождающейся увеличением количества свободных ионов и процессами быстрого распада белков. При первой реакции, повидимому, не образуется продуктов белкового распада, которые могут выйти наружу в эксудат, т.к. этот процесс сопровождался бы уменьшением низкочастотной проводимости, т.е. отбуханием клеток. Отбухание, повидимому, наступает в

конце второй реакции (p 32) Это может быть следствием выхода высокомолекулярных продуктов наружу из клеток, ~~за~~ образованием первичного эксудата.

Значения ~~М~~ полученные нами говорят о том, что обнаруженная нами реакция такого же порядка, какой обычно наблюдается для различных жизненных процессов, как, например, спиртового брожения, дыхания, сокращения сердца и т.д., это показывает, что мы имеем дело не с резко токсическим действием фактора, так как обычно при токсических эффектах сопровождающихся некрозом, резким распадом, коагуляцией белка и разрушением структуры клетки, значения ~~М~~ гораздо выше (Сгорел ³⁸ Разиваг ⁴⁴)

Косвенно по изменениям электропроводности, мы пришли к выводу, что основной процесс, получающийся при действии скипидара, кротонowego масла и горч. масла сопровождается набуханием, поэтому углубленный анализ процесса лучше всего провести непосредственно, наблюдая кинетику набухания.

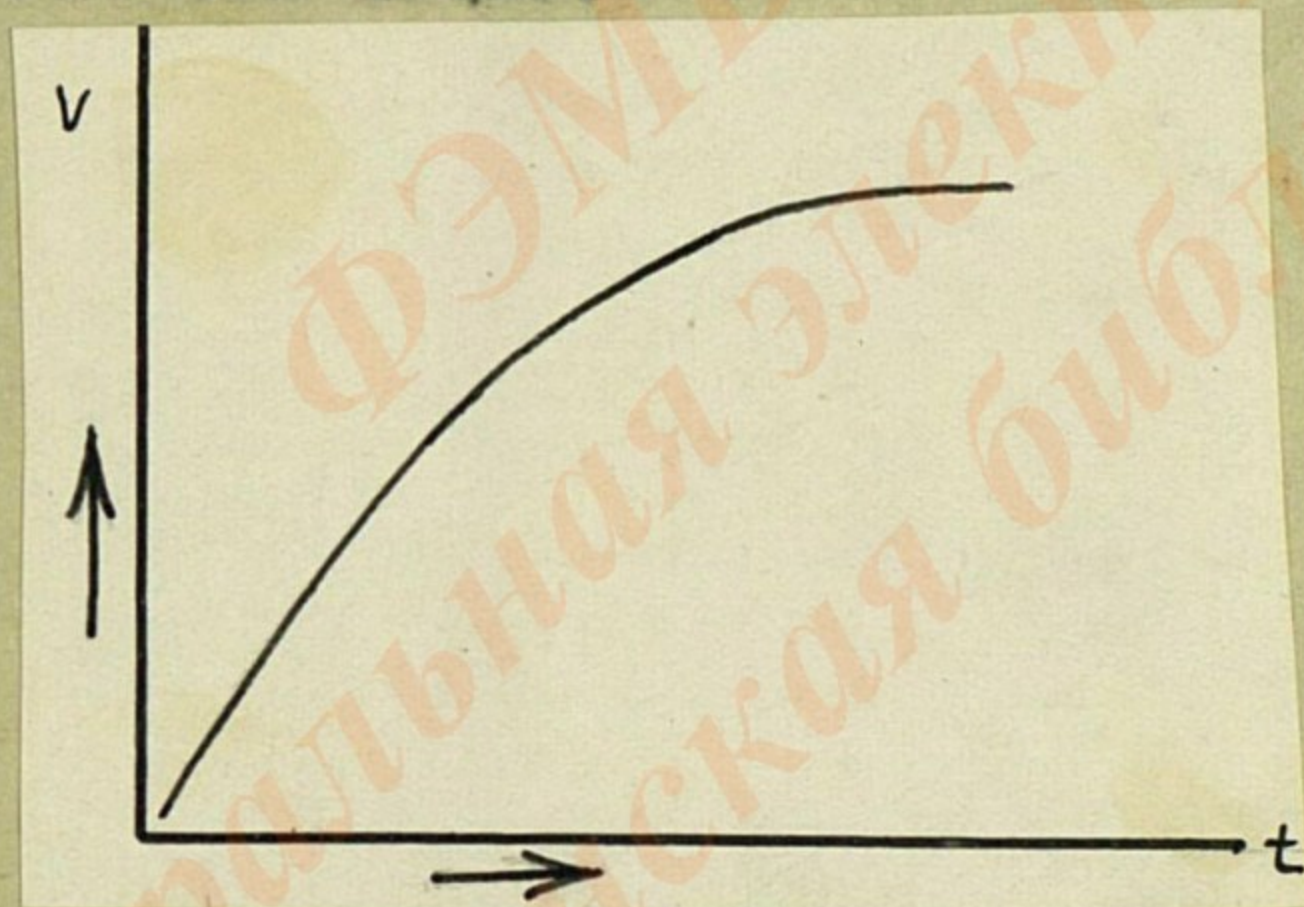
Набухание тканей при действии воспалительных агентов.

а. М е т о д и к а.

Как, мы уже указывали выше (30-35 стр) процесс набухания, который мы наблюдаем при помощи электропроводности дает качественную характеристику, т.к. набухательная способность клетки встречает противодействие. Нам ~~ф~~казалось, что количество вновь образующихся веществ в клетке может быть точно определено в том случае, если клетки

будут иметь возможность неограниченного набухания, т.е. будут помещены в раствор.

Если поместить свежесрезанную ткань в раствор Рингера, ткань обычно набухает. Как правило, набухание ткани протекает также, как набухание любого лиофильного коллоида. Кинетика увеличения веса ткани в Рингере в том случае, если клетки ткани живы, выражается кривой *гиперболического* типа. Т.е. прирост веса постепенно закономерно уменьшается и по истечении некоторого промежутка времени кривая идет горизонтально оси абсцис.



Р.34

Однако, такой правильный ход кинетики набухания наблюдается только в том случае, если физико-химическое состояние ткани в течение опыта остается неизменным. Если в протоплазме клеток происходят процессы, сопровождающиеся изменением осмотического давления, то ход кривой набухания будет нарушен и по характеру этого нарушения можно судить о тех процессах, которые будут происходить в клетках.

Поэтому мы считали, что та химическая реакция, которую мы обнаружили при помощи электропроводности, должна выявиться и при изучении кинетики набухания тканей. Метод изучения набухаемости заключался в следующем. Аккуратно вырезание

бритвой кусочки тканей кролика подвергались в течение 10 - 30 минут действию скипидара, крот. масла и др. веществ, после этого они помещались в раствор Рингера (для теплокровных) и через каждые 5 - 10 минут изменения веса их регистрировались взвешиванием на торсионных весах Банга. Перед взвешиванием лишняя вода удалялась при помощи фильтровальной бумаги.

Полноценность ткани, т.е. ее жизнеспособность контролировалась при помощи электропроводности. Мы определяли коэффициент по методу описанному на (стр. 38) и пользовались для опытов тканями, для которых величина K соответствовала норме и заметно не снижалась во время опыта.

Динамика изменения веса кусочков переживающих тканей подвергнутых действию скипидара сразу же подтвердила наше предположение, высказанное на стр. 61, что изменения электропроводности вызваны в основном повышением набухательной способности клеток. Набухаемость тканей обработанных скипидаром действительно повышена по сравнению с контролем. Большой интерес для нас представляло то, что процесс набухания протекает так же в виде двух фаз, как электропроводность /стр. 60/. На рис. 35 вычерчена кривая набухания печени кролика, подвергнутой 20 минутному действию паров скипидара.

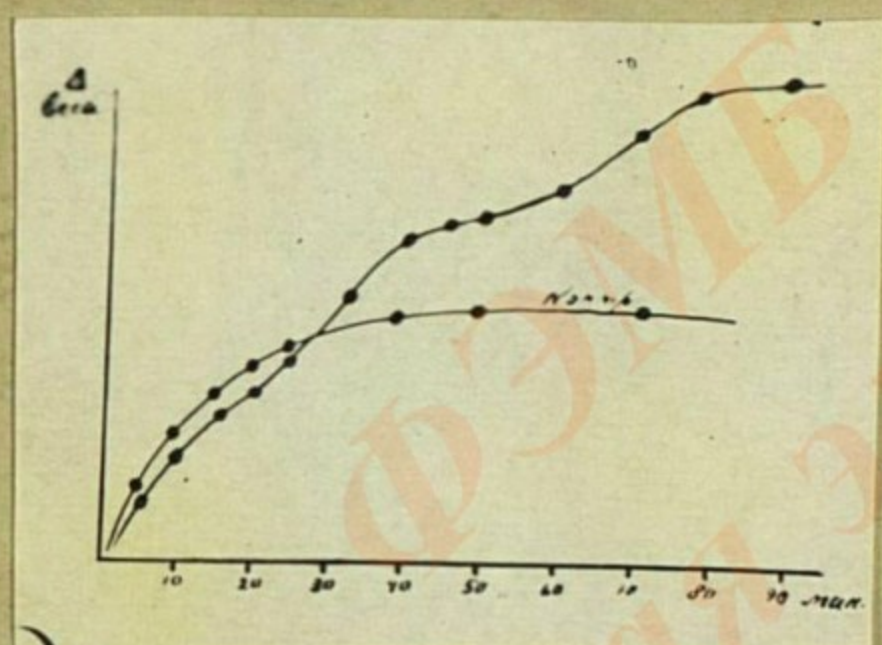


Рисунок. 35

В течение первых 20 минут кривая отравленной ткани по характеру напоминает контрольную кривую, при этом набухательная способность несколько понижена. Уже через 20 минут начинается быстрое нарастание кривой. Ткань энергично набухает и обгоняет контроль. Энергия набухания через некоторое время замедляется и приостанавливается. Через некоторый промежуток времени начинается новый подъем. Этот подъем по времени совпадает с переломной точкой, которую мы наблюдали при измерениях низкочастотной проводимости. Кривую набухаемости уже сразу можно графически разбить на три самостоятельных участка, которые связаны, по видимому, с различными процессами. На первом участке закономерности

набухательного процесса не нарушена. Однако, кривая снижена по отношению к контрольной. Правильная форма этой части говорит нам о том, что химических превращений, связанных с увеличением количества ионов или продуктов распада белка в этой стадии нет. Высокочастотная проводимость вначале падает /рис. 27/, следовательно, количество активных ионов уменьшается.

Вследствие уменьшения осмотического давления понижается набухаемость тканей. Второй участок кривой характеризуется увеличением набухаемости. Этот период соответствует увеличению низкочастотной проводимости /рис. 28/ и дальнейшему уменьшению высокочастотной.

Вышеуказанные изменения мы рассматриваем как отражение кинетики химической реакции, которая протекает под действием скиннадара в белках протоплазмы.

Третий участок кривой начинается через 50-60 мин.ут. Это новая волна набухания, она совпадает по времени с второй фазой нарастания н.ч. электропроводности. Количество свободных ионов к этому времени /т.е. вч. проводимость/ снова возвращается к норме и даже немного превышает ее. Это опять-таки результат второй реакции. Характер изменений говорит о том, что это реакция отличается от первой реакции и принадлежит к другому типу.

Для выяснения количественных закономерностей мы поставили серию измерений, при которых варьировалось время воздействия воспалительного агента. При этой операции мы как-бы фактически меняли концентрацию одного из компонентов реакции.

На рис. 36 приведены кривые набухания кусочков печени, которые получили различные дозы скиннадара.

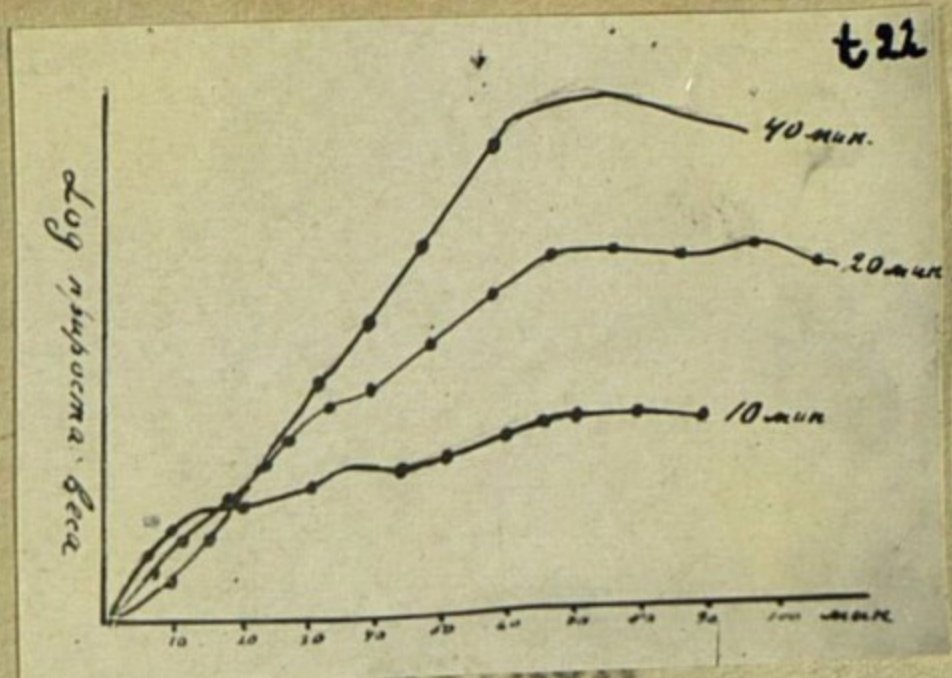
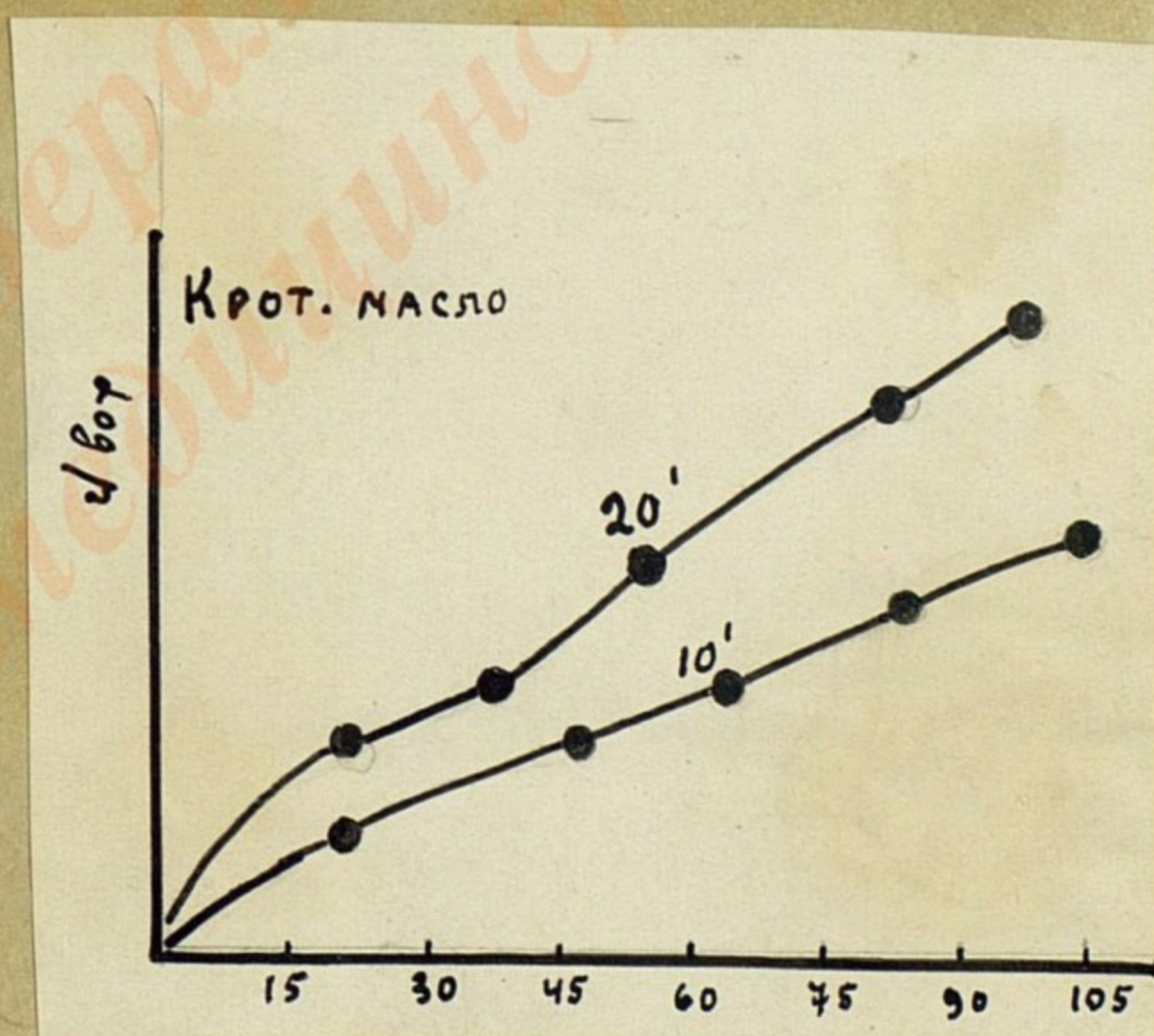


Рис 36

На ординате нанесены логарифмы прироста веса, на абсциссе время. Второй участок кривой при этом способе графического изображения дает прямую линию при всех трех концентрациях. Цифра увеличения веса фактически показывает количество распавшегося вещества. Из закона для мономолекулярных реакций следует, что кривые, изображающие логарифмы распадающегося вещества в качестве функции времени, должны представлять собою прямые линии. Поэтому мы вправе сделать вывод, что данная реакция протекает по мономолекулярному типу.



Первая реакция при логарифмировании не дает прямой линии и относится, повидимому, к более сложным процессам. Так как начальные точки переломов кривой набухания обнаруживаются весьма четко, мы могли очень точно определить температурную зависимость реакции гораздо точнее, нежели мы это смогли сделать по электропроводности. Для вышеуказанной цели мы изучили кривую набухания при нескольких температурах. Процесс набухания проводился в водяном термостате. Процедура взвешивания протекала настолько быстро, что не отражалась на изменении температуры ткани. Мы провели наблюдения при пяти температурах 0, 10, 17, 23, 35 градусах.

Кривые набухания снятые при этих температурах приведены на рисунке 38

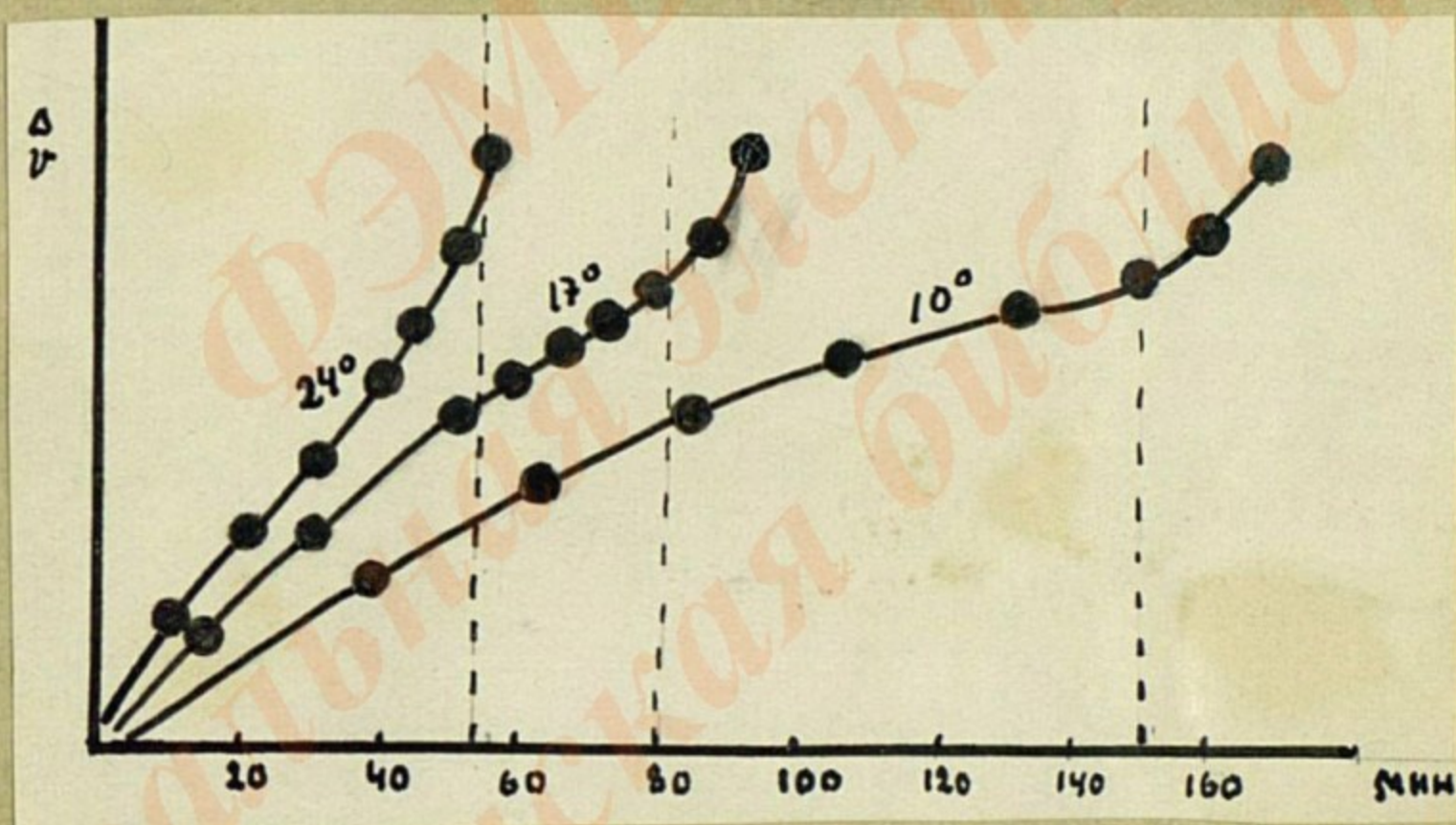
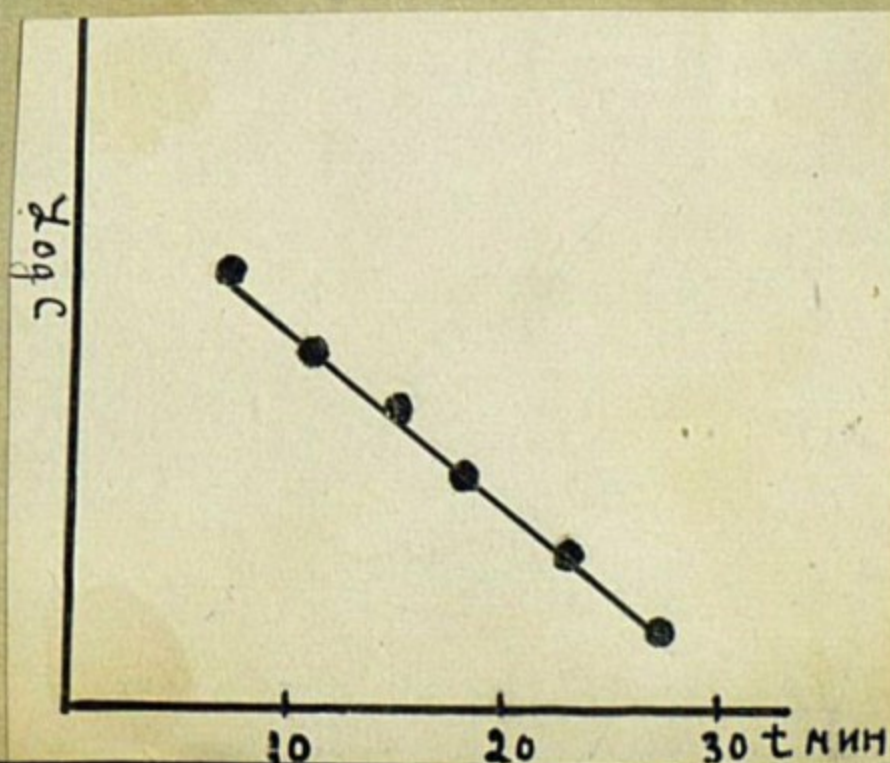


Рисунок 38

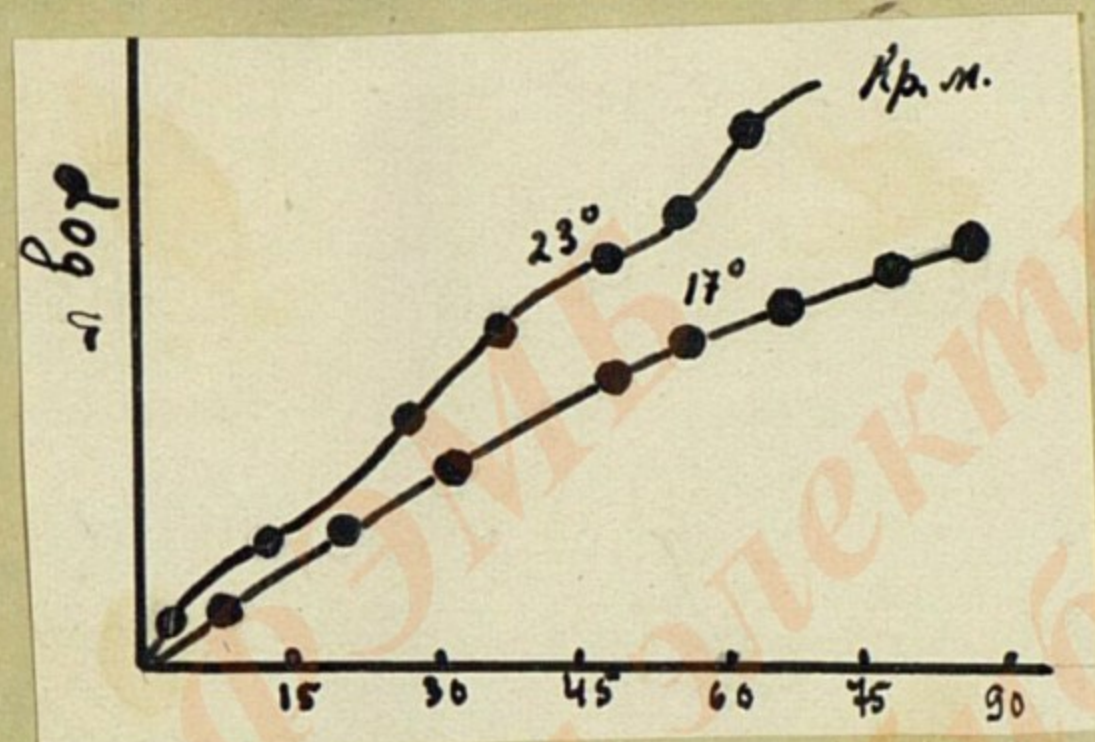
На основании полученных данных можно сразу сказать, что первая реакция почти не зависит от температуры, в то же время начало наступления второй резко ускоряется. Если на ординате нанести логарифмы времени начала реакции, а на абсциссе температуры, то оказывается, что полученные точки хорошо укладываются на прямой линии.



Для этой кривой легко может быть высчитана температурная константа « Аррениуса. Ее значение оказывается равно 12000, т.е. такого же порядка, как при обычных химических реакциях.

Характер реакции и основные константы ее оказываются идентичными для всех изученных нами органов /мышца, кожа, почка, печень/.

Нам удалось установить, что кривая набухания при действии на ткани кротонового масла (39) также горч масла идентична с кривой, полученной при действии скипидара.



Р.39

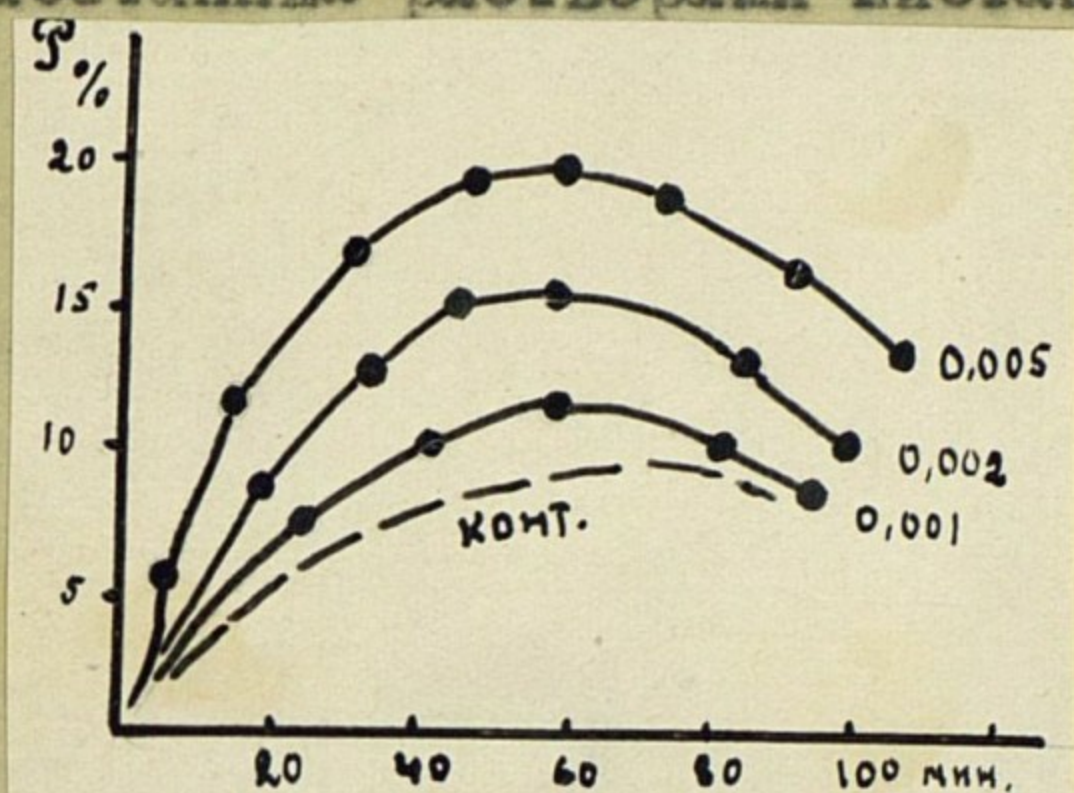
В равной мере полная аналогия получается с величиной температурной постоянной. Это говорит наглядно о том, что химические процессы при действии кротонового масла и скипидара одни и те же.

Возникал естественно вопрос, специфична ли полученная реакция только для воспалительных ядов и будет ли вызывать сходные явления гистамин, которому в проблеме воспаления, как мы уже указывали выше, отводится довольно почетная роль.

Гистамин безусловно принадлежит к группе веществ, которые активно действуют на клетку и вызывают в ней химические превращения. Если в результате воздействия воспалительного агента на живую ткань, в ней происходит освобождение гистамина как это предполагал Левис, то можно было бы думать, что первая реакция сопровождается освобождением гистамина из клеток

вторая же реакция /мономолекулярная/ возникает в результате действия гистамина на протоплазму клеток.

На рис. 40 показаны диаграммы изменения набухаемости тканей, обработанных растворами гистамина различной крепости.



Р. 40

При действии гистамина процесс набухания изменяется. Абсолютная величина набухания увеличивается. Однако, форма кривой вполне нормальна и на ней нельзя обнаружить каких-либо скачков, которые говорили бы о наличии активного химического процесса.

Гистаминовая кривая характеризуется обратным отбуханием, которое начинается через 50-60 минут после опыта.

Скорость отбухания также как и абсолютное максимальное значение набухания зависит от количества гистамина. Гистаминовая кривая не дает тех явлений, которые мы получали при действии воспалительных агентов. Гистамин безусловно вызывает изменения белков протоплазмы, но эти изменения происходят очень быстро и лежат вне поля нашего зрения. Повидимому, повышение набухательной способности является ^{уже} результатом установившегося равновесия. Повышенная набухаемость тканей, подвергнутых действию гистамина, может произойти в результате образования в клетках высокомолекулярных продуктов распада белка. Эти продукты медленно диффундируют из клеток наружу, вызывая образование серозного эксудата. Перелом кривой, сопровождающийся

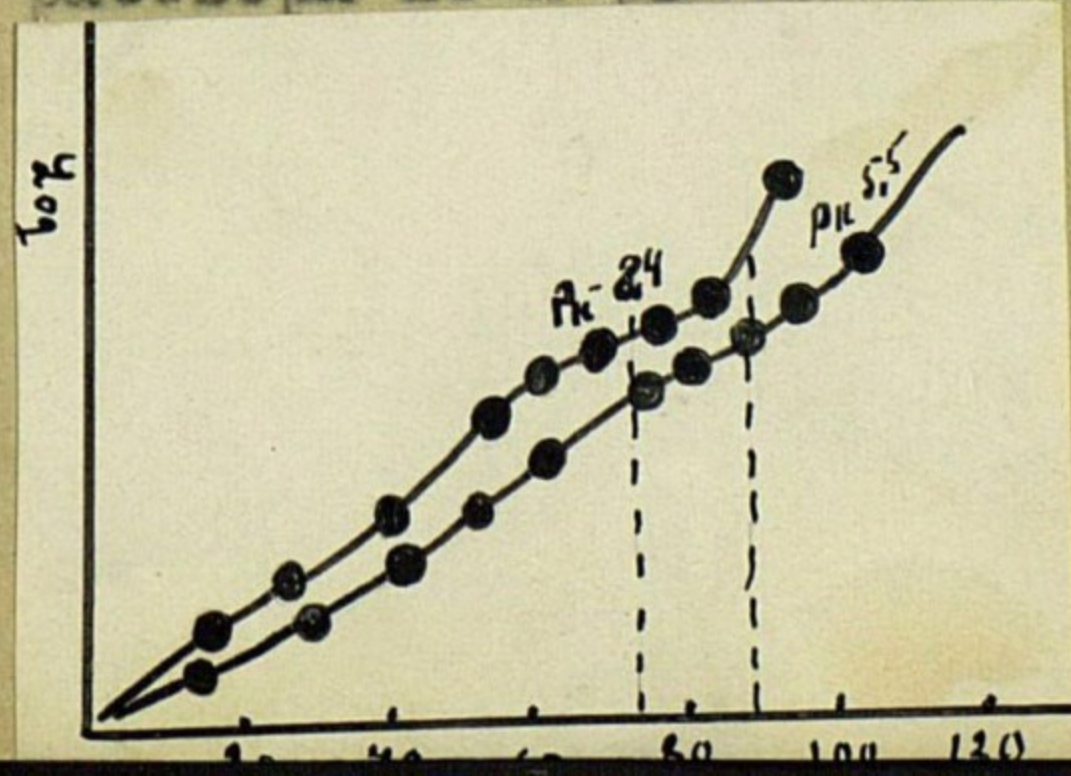
отбуханием, не является индексом наступления новой химической реакции.

Изменения набухаемости отравленных гистамином тканей объясняются сложением двух процессов: процесса набухания и одновременно протекающего процесса выхода продуктов наружу, т.е. понижения внутриклеточного осмотического давления. Второй процесс выявляется тогда, когда скорость набухания уменьшается /рис. 40 /.

В пользу нашего предположения говорит температурная зависимость ^{температурной} переломной точки. Температура, как и следовало ожидать, очень мало влияет на ее положение.

В процессе набухания, полученного при помощи скинидара и кротонowego масла, мы не находим элементов, которые могли бы говорить о том, что вторая реакция - действие гистамина. Среди факторов, оказывающих влияние на кинетику реакций важную и исключительную роль играют водородные ионы. По существующим представлениям - водородным ионам - принадлежит решающая роль в этиологии воспалительного процесса. Поэтому для полноты анализа мы должны были изучить, как влияет изменение концентрации водородных ионов на скорость обнаруженных нами реакций.

В первую очередь мы изучили как протекает процесс набухания тканей, отравленных скинидаром при различных pH рингеровского раствора. Для этой цели мы изменяли реакцию при помощи буферного раствора из первичного и вторичного фосфата.



Результаты показывают, что скорость первой реакции практически мало зависит от концентрации водородных ионов. Скорость же второй обнаруживает зависимость от pH .

Реакция явно ускоряется в щелочных растворах и замедляется при кислых реакциях. На диаграмме показаны изменения константы скорости второй реакции при различных pH .

При этих опытах нельзя быть вполне уверенным в том, что если мы создаем определенную концентрацию водородных ионов в растворе, то такая же концентрация pH будет в клетке. Клетка, как это хорошо известно, очень стойко удерживает активную реакцию, которая заметно сдвигается только при гибели ее. Кроме того, весьма вероятно, что фосфаты очень мало или даже совсем не проникают в клетку. Правда, все-таки изменения pH внешнего раствора должно оказывать влияние на процессы кислотно-щелочного равновесия.

Однако мы располагаем вполне надежными способами для того, чтобы сдвинуть реакцию протоплазмы в нужную сторону. Уже давно, Гарзеем ^{№6} было установлено, что аммиак проникает очень быстро из внешнего раствора в клетки и вызывает подщелачивание протоплазмы. При этом, конечно, существует опасность, что сдвиг реакции перешагнет возможные физиологические и патологические нормы и приведет практически к гибели клетки. Поэтому мы дозировали количество аммиака во внешнем растворе точно эмпирически так, чтобы при этом в течение достаточно продолжительного промежутка времени электропроводность тканей ее (коэффициент) оставался нормальным.

Практически это достигается тогда, когда pH раствора около 8,4 - 8,6. Реакция внутри клеток при этом сдвигается в щелочную сторону. Это ясно видно тогда, когда ткань пред-

варительно окрашена нейтральротом.

Если проследить процесс набухания при действии только аммиака без скипидара и кртонового масла, то оказывается, что он заметно изменяет набухаемость тканей. Однако, при этом сдвигается только ордината кривой. Процесс же набухания протекает вполне нормально, кривая имеет плавный ход.

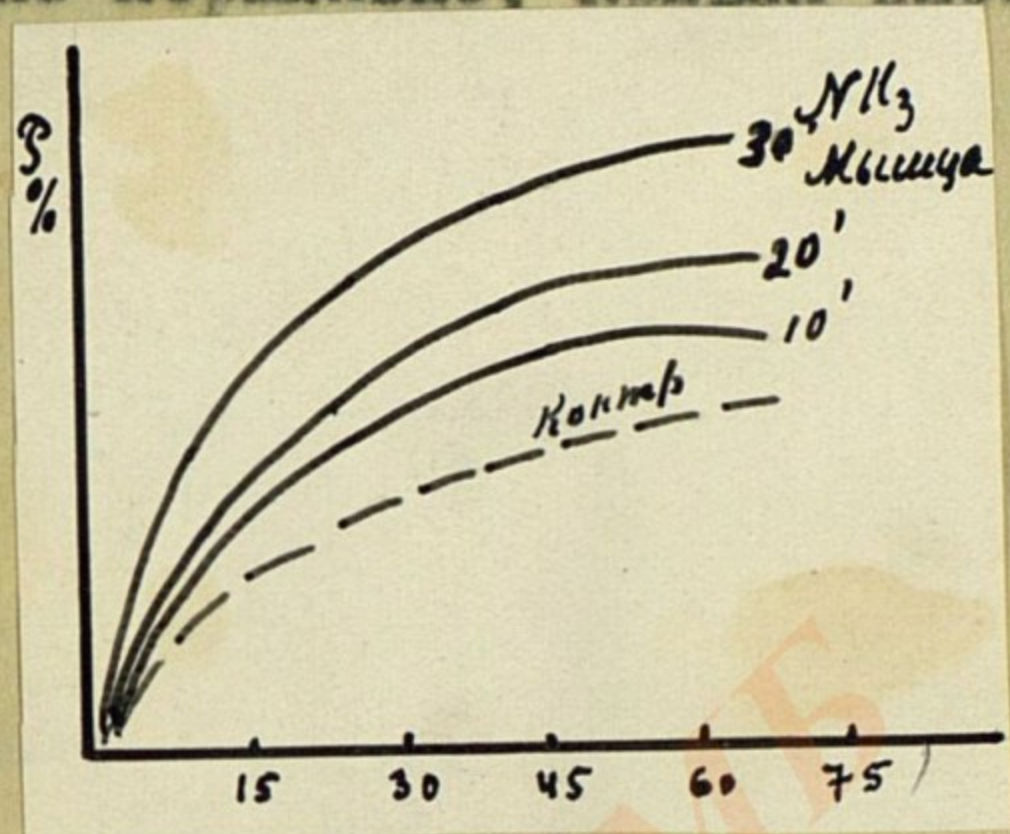


Рисунок. 42

Это говорит нам о том, что аммиак в тех концентрациях, которые мы применяли, сам по себе не вызывает химических превращений.

Если действовать аммиаком на ткань, обработанную предварительно скипидаром или кртоновым маслом, то оказывается, что наступление второй реакции ускоряется.

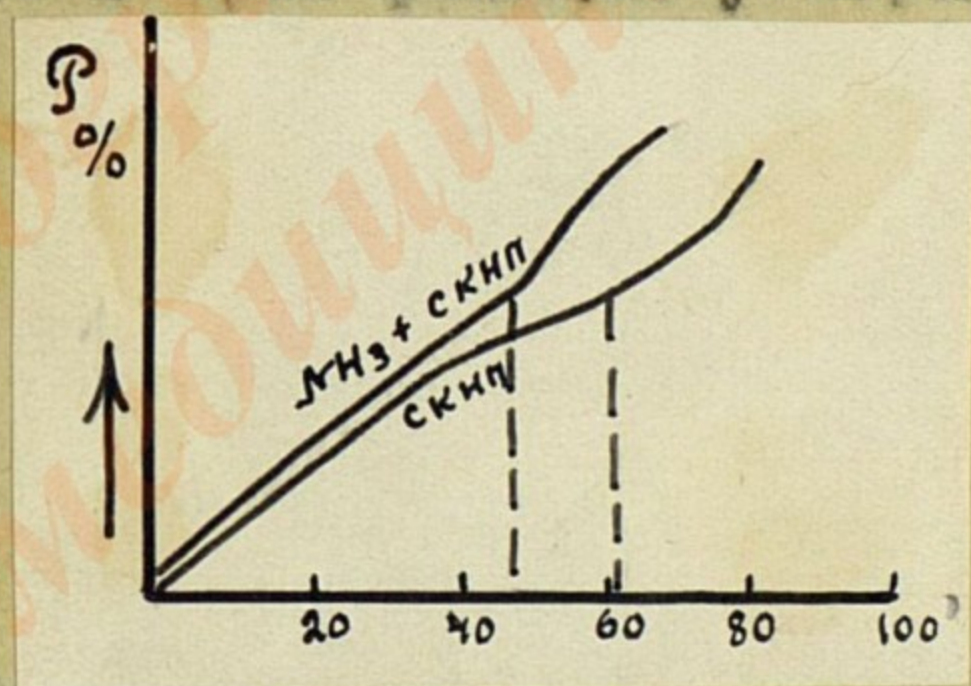


Рисунок. 43

Его действие, следовательно, совпадает с действием щелочного буферного раствора.

Правильность течения реакции, однако, при этом нарушается, точки ложатся не по прямой и это показывает, что в клетке

R_n не удерживается стойко на одном уровне и величина константы реакции непрерывно меняется.

Для сдвига R_n в сторону кислых значений, мы воспользовались слабыми органическими кислотами. Слабые кислоты в недиссоциированном состоянии, в противоположность сильным кислотам, легко проникают в клетку и сдвигают ее реакцию в кислую сторону. Мы прибавляли к рингеру некоторое количество лимонной или уксусной кислоты до 5-5,5 R_n . При действии этих кислот так же, как и при действии аммиака правильность процесса набухания не искажается, химическая реакция не происходит, а изменяется несколько, только физико-химическое состояние белков протоплазмы.

Вышеуказанные кислоты замедляют наступление второй реакции - скачка при набухании тканей отравленных скипидаром и кротоновым маслом.

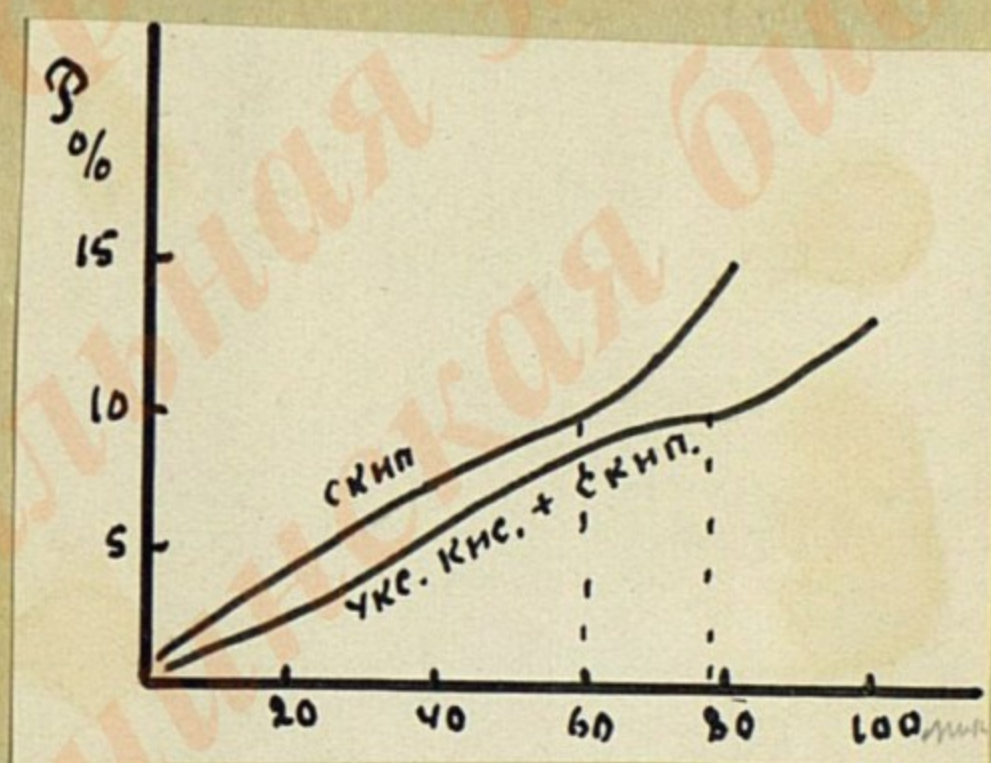


Рисунок. 44

Эти наблюдения ясно показывают, что R_n оказывает влияние на течение второй мономолекулярной реакции. Поэтому мы вправе сделать вывод, что в клетках, отравленных скипидаром и кротоновым маслом, активная реакция стойко удерживается на одном уровне. Если бы в ходе реакции R_n менялось, то скорость также изменялась бы и при логарифмировании мы не получили бы прямой линии.

Стрикция тканей при действии воспалительных агентов.

Как известно, при набухании гелей происходит некоторое уменьшение объема, т.е. объем геля меньше суммы сухого вещества и воды, которую он поглотил. Это изменение объема появляется вследствие того, что молекулы воды, принимая ориентированное положение укладываются более плотно. Процесс изменения объема при набухании обычно идет параллельно увеличению веса и кривая этого процесса, как это установил *Katz*⁴⁶, выражается обычно прямоугольными гиперболой, т.е. так же, как процесс набухания. Поэтому можно при первом приближении пользоваться стрикционной кривой для изучения набухания. Однако, связь между набуханием и сокращением объема иногда нарушается. Это происходит обычно тогда, когда в коллоидах протекают одновременные процессы, при которых изменяется одновременно количество свободных ионов. Так, например, *Gustavson*⁴⁷ установил, что при набухании стрикционный процесс может быть ослаблен, если при этом одновременно происходит связывание водородных или гидроксильных ионов. Связываясь химически с белком эти ионы теряют свои сальватные оболочки и освободившаяся вода занимает больший объем.

Для нас представляло большой интерес, наряду с процессом набухания и электропроводности изучить, как протекает при этом стрикция в тканях. При действии скипидара и кротонowego масла в клетках повышается набухательная способность. Одновременно изменяется высокочастотная электропроводность, которая говорит о том, что в тканях происходит изменение количества свободных ионов. Эти процессы должны отразиться на стрикционных явлениях. Методика изучения стрикции заключалась в следующем: ткани, подвергнутые различным воздействиям,

помещались в стрикционные сосуды с градуированными тонкими капиллярами.

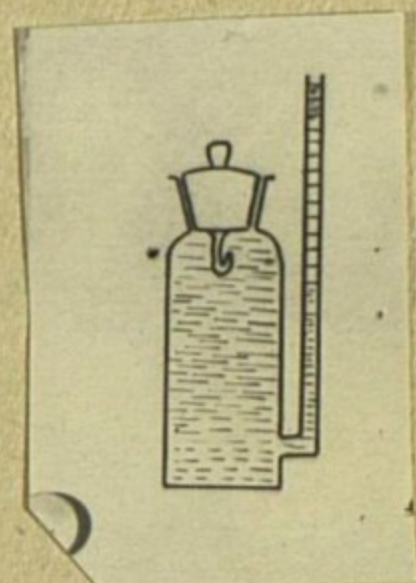


Рисунок. 45

Сосуды устанавливались в водяном термостате с очень точной регулировкой температуры, т.к. сдвиги ее уже в 0,01 вызывают заметные изменения уровня в капилляре. Наблюдения изменения уровня жидкости в капилляре производились при помощи катетометра.

Перед опытом сосудики выдерживались продолжительное время - 30 минут - в термостате. Затравка ткани также производилась в отдельном сосудике помещавшемся в том же термостате.

После затравки орган быстро переносился в стрикционный сосуд. Благодаря тому, что ткань уже предварительно доводилась до температуры термостата, время установки уровня в капилляре было доведено до минимума и через две минуты можно было начинать отсчет.

Измерения электропроводности производились до начала опыта и после его окончания. В некоторых случаях во втором сосудике параллельно в течение всего опыта производились измерения проводимости.

При изучении процесса сокращения объема тканей, отравленных скипидаром и кротоновым маслом, мы обнаружили полную аналогию с теми процессами, которые раньше нами были обнаружены по электропроводности и набуханию.

При набухании в рингере тканей кролика (печень, мышца, кожа) происходит сокращение объема. В контроле кривая изменения этого объема изменяется плавно без скачков и имеет форму ~~гиперболической~~ *гиперболической*. В тканях, отравленных скипидаром и кротоновым маслом также наблюдается сокращение объема. Однако, кривая этого изменения объема не имеет правильной формы, она искажена тем, что в начале ее имеются два скачка, сопровождающиеся довольно резким повышением стрикции.

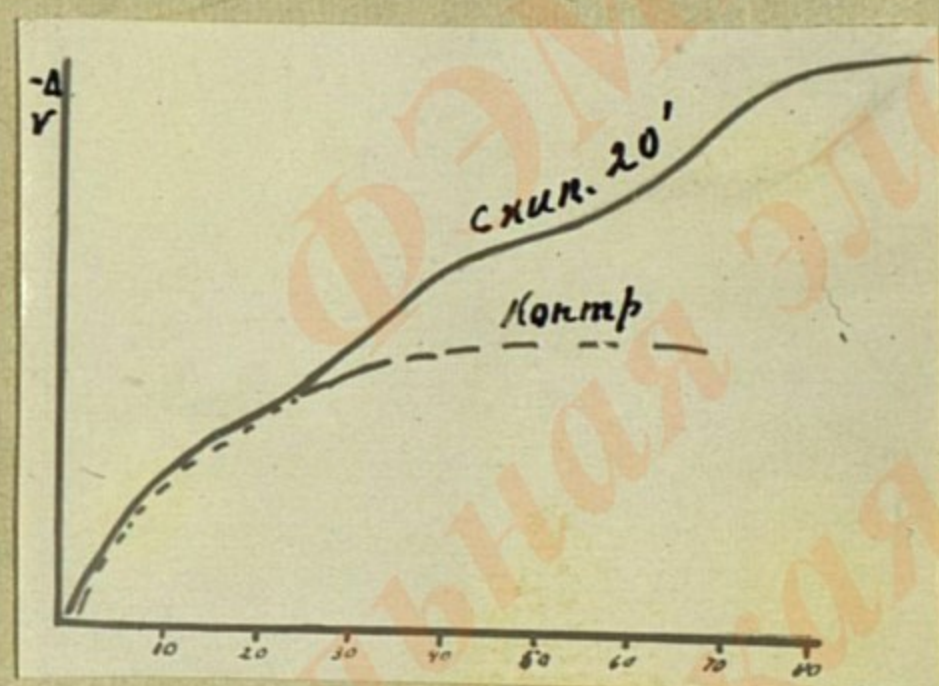


Рисунок. 46

Положение этих скачков определяется на кривой очень точно. По времени эти скачки совпадают с теми скачками, которые мы наблюдали при изучении электропроводности и набухания. Первый скачек, как и в предыдущих наблюдениях при 17°C начинается через 20 минут после начала опыта, второй через 40-50 минут. Это совпадение позволяет нам считать, что изменения стрикции являются отражением той же реакции, которую мы обнаружили другими способами.

На процессе изменения объема в меньшей мере отражаются побочные факторы и сам метод гораздо точнее, нежели измерение набухания. Поэтому кривые стрикционного процесса

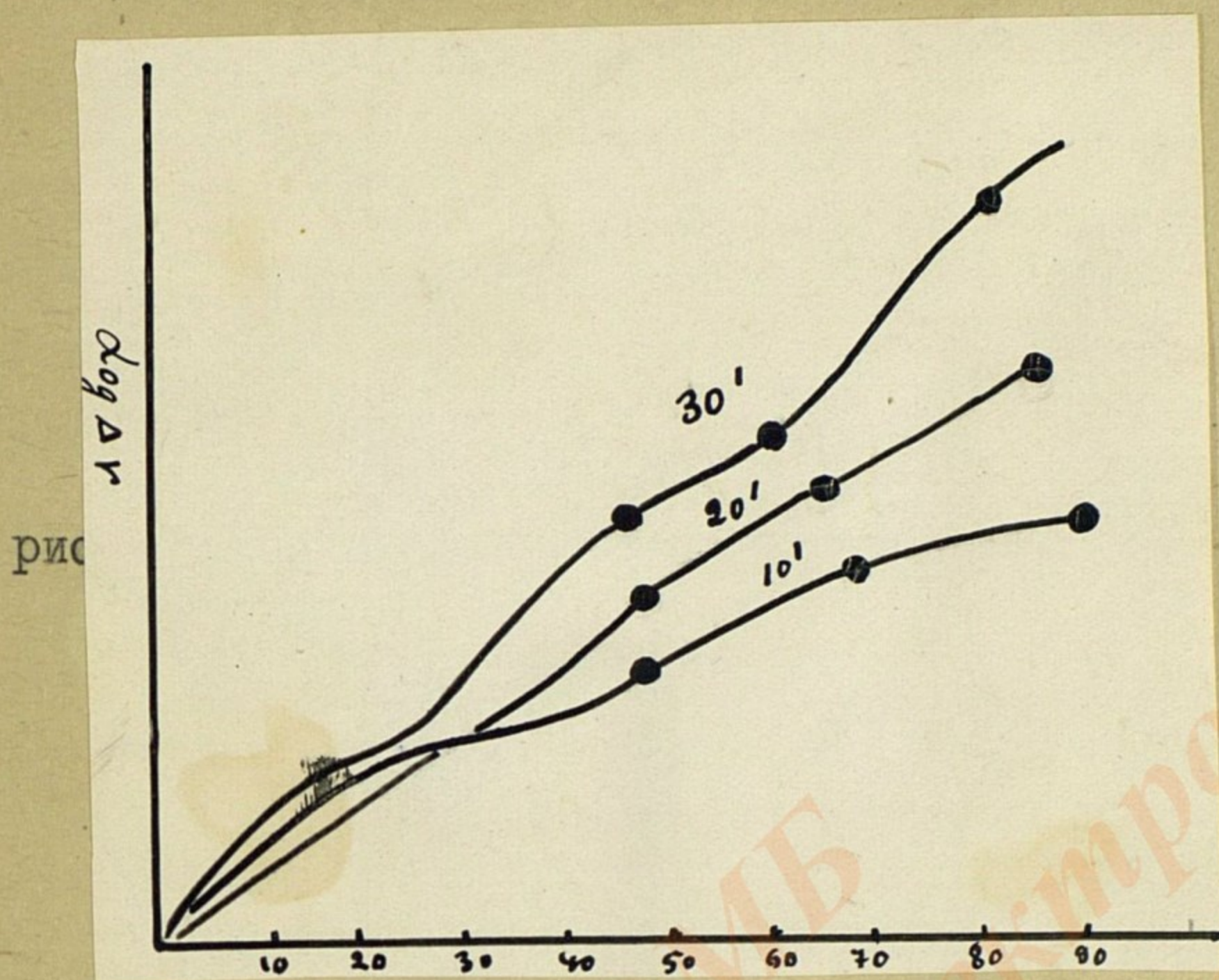


Рисунок. 48

Когда мы повторили вышеуказанные опыты с кртоновым маслом, то оказалось, что химический процесс, протекающий в тканях под действием этого воспалительного агента аналогичен тому процессу, который протекает, при действии скипидара. Различия, заключающиеся в том, что скорости реакции при одинаковом времени воздействия отличны: Это должно объясняться тем, что время воздействия является, конечно, только относительной мерой, так как упругости паров, и скорости диффузии этих двух веществ различны.

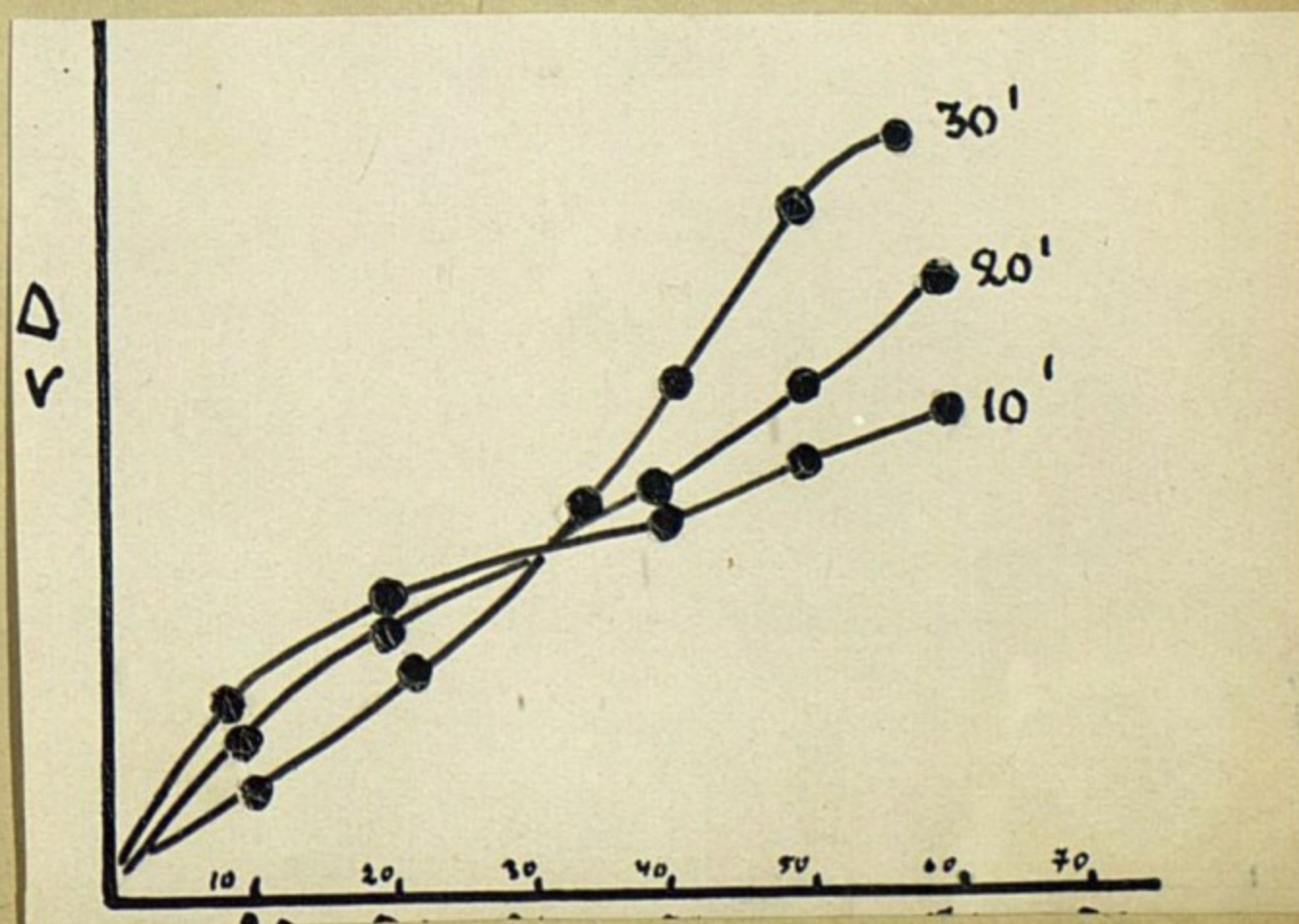


Рисунок. 49

отличаются большой точностью и воспроизводимостью данных. Если отложить в логарифмах величины стрикции на ординате, а на абсциссе время, то кривая второго под"ема выпрямляется.

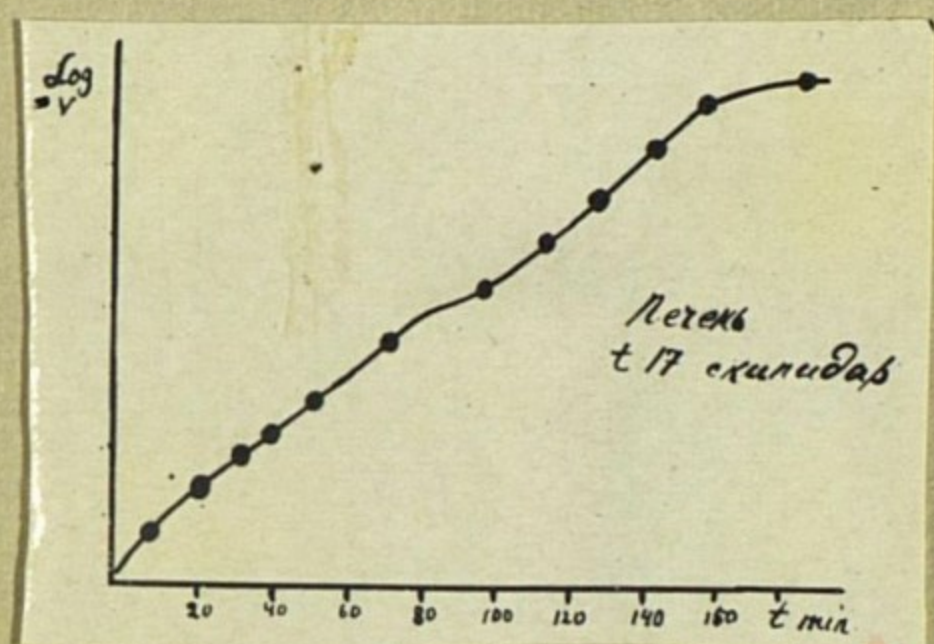


Рисунок. 47

В противоположность кривой набухаемости (стр. 65) почти прямолинейную форму принимает также и первый участок. Изменяя количество скипидара увеличением времени воздействия и повышением температуры мы получаем ряд кривых, где

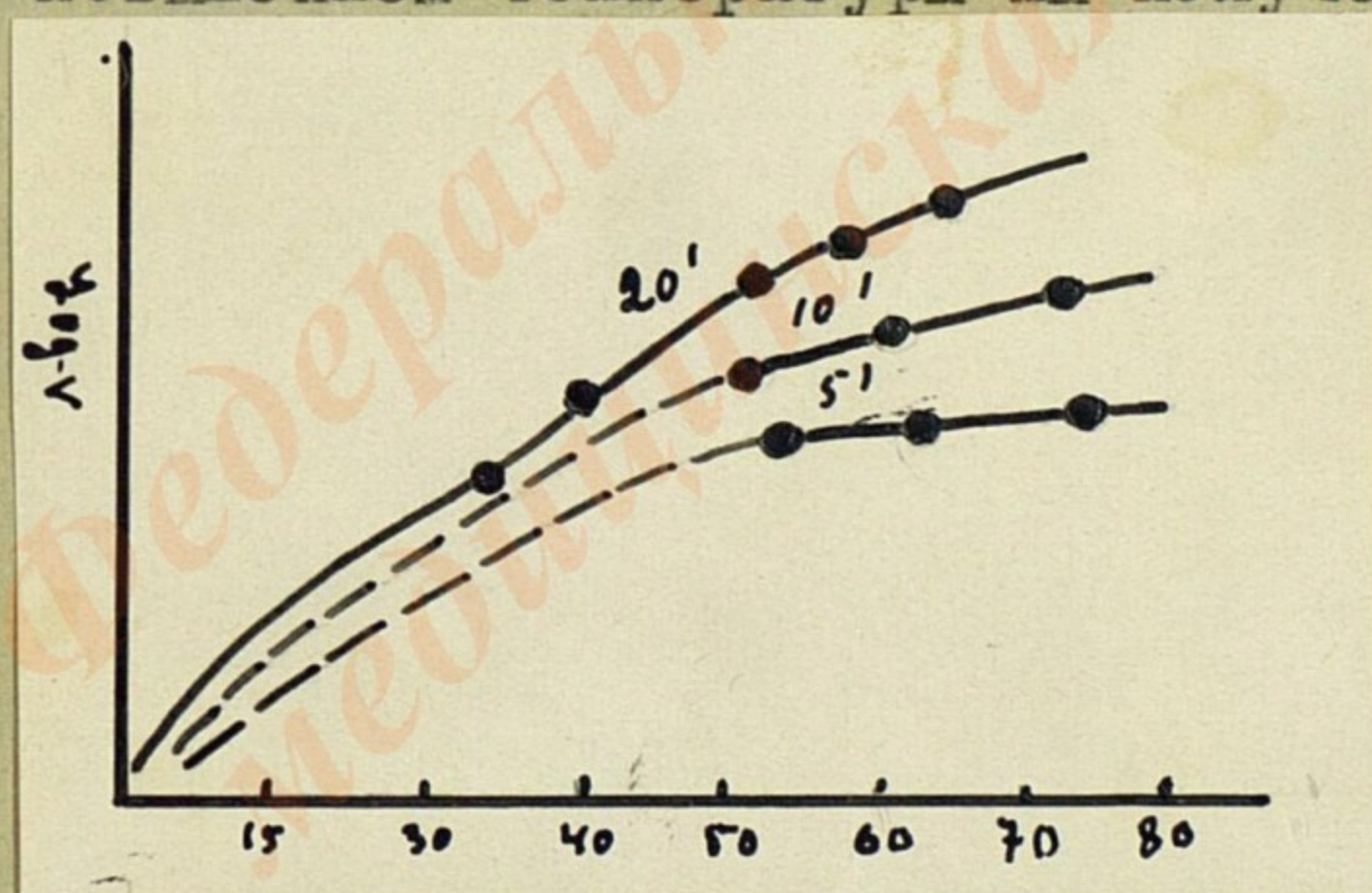


Рис 48

также с увеличением дозы (стр. 67) нарастает скорость реакции, т.е. угол наклона кривой по отношению к оси абсцисс. Скорости реакции, в зависимости от концентрации, даны на

рис 48

Полная аналогия между действием этих двух факторов устанавливается при измерениях температурной зависимости. Измеряя скорость реакции при различных температурах от 0 до 35 градусов мы получили более точно те же самые результаты, как и при изучении электропроводности и набухания. Точки, определяющие скорость второй реакции ложатся с поразительной для биологического объекта точностью и дают при логарифмировании прямую линию, как для скипидара ⁵⁰ так и для кртонового ⁵¹ масла, давая, опять-таки, такое же значение для температурной константы реакций.

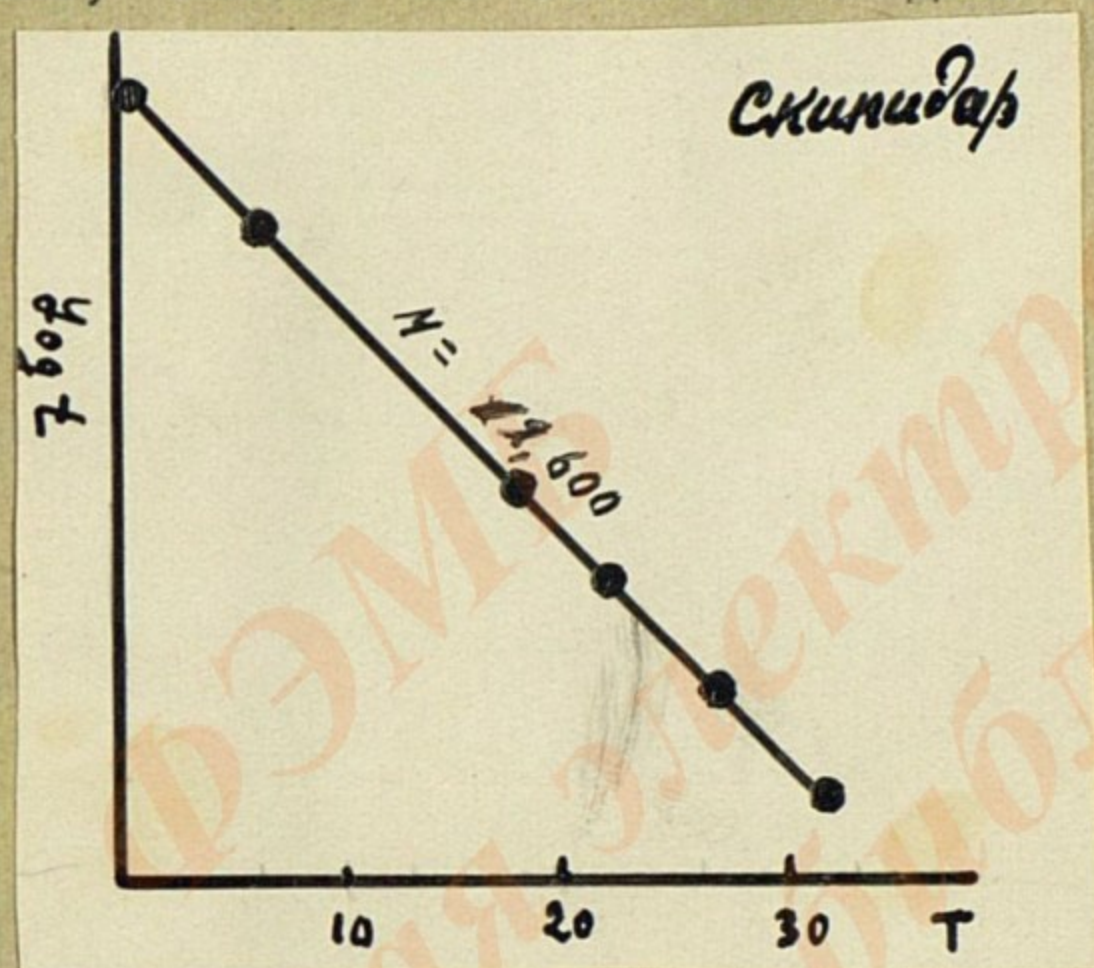
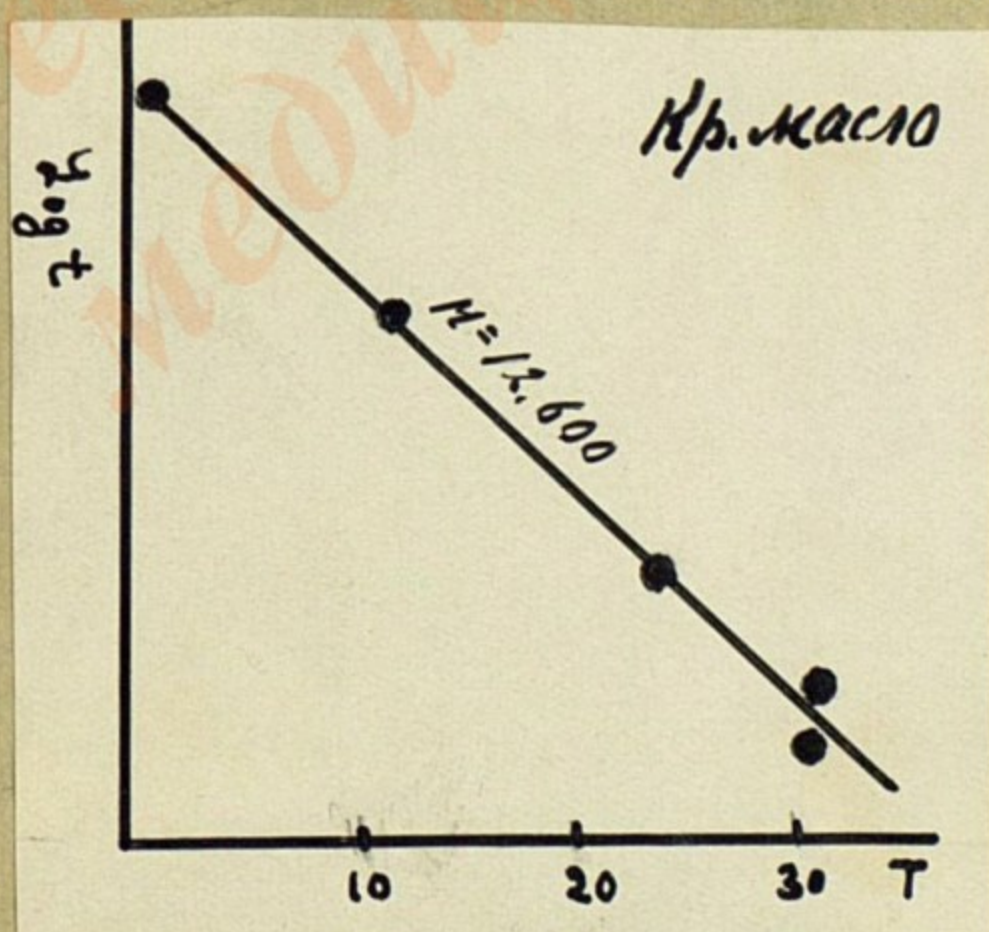


Рисунок. 50

Для первой реакции мы не выводили прежде зависимости ввиду некоторой расплывчатости данных. Большая четкость стрикционных изменений позволила нам окончательно установить, что величина константы для этой реакции очень низка.



Вне всяких сомнений то, что критические точки для всех трех методов - отражение одного и того же процесса. Однако, при более глубоком сопоставлении кривых набухания и стрикции обнаруживается некоторое несовпадение в абсолютных цифрах.

Как мы уже указывали выше, набухаемость и стрикция, тесно связанные параллельные процессы. И уменьшение объема можно предсказать и высчитать. Связь между количеством поглощенной при набухании воды и величиной стрикции выразил ^{Натх} в виде простой формулы

$$C = \frac{\Delta i}{B \times i}$$

где С сокращение объема, Δ количество граммов воды, поглощенных 1 гр. набухающего тела Δ и В константы. Значения этих констант для печени мы находили из контрольной кривой

Если подсчитать величины стрикции из набухаемости для различных участков нашей кривой, то оказывается, что кривая стрикции дает довольно хорошее совпадение на всех участках кривой, кроме участка, отражающего первую реакцию. Величина стрикции явно меньше той величины, которую следовало ожидать,

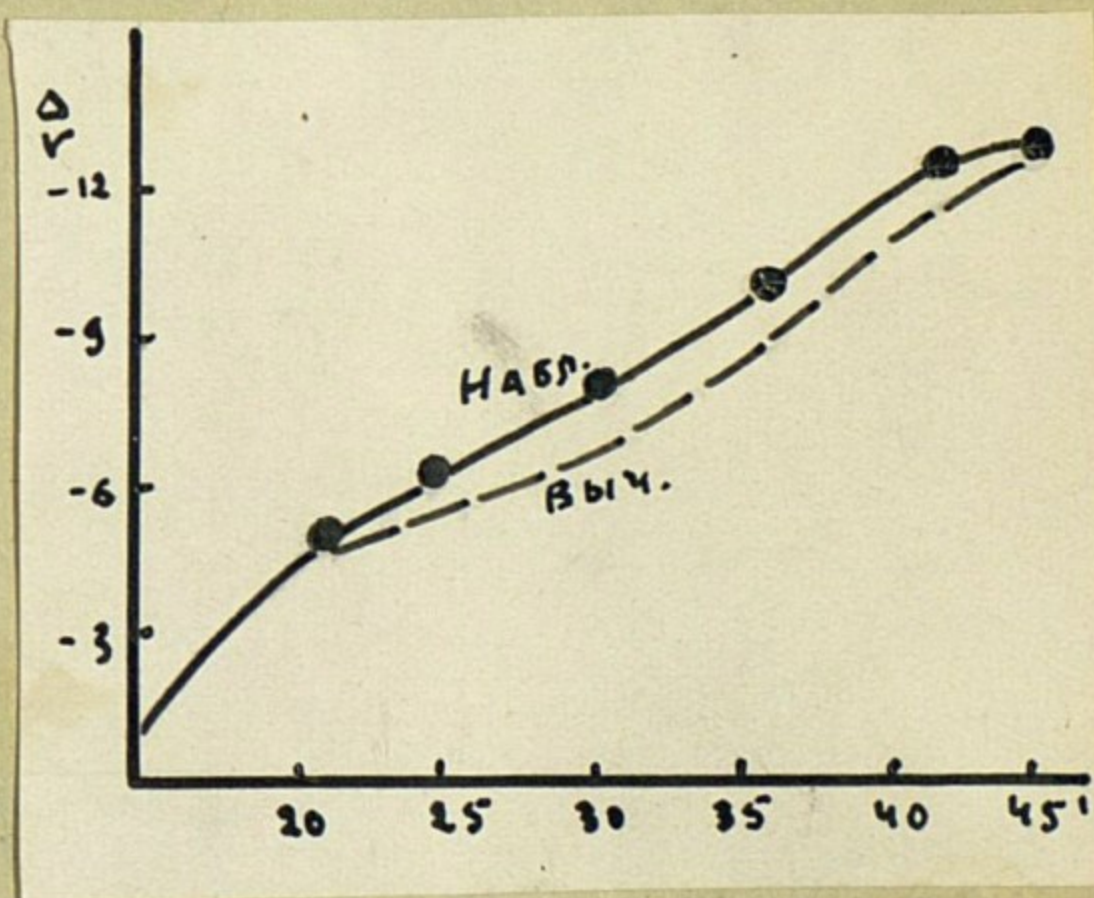
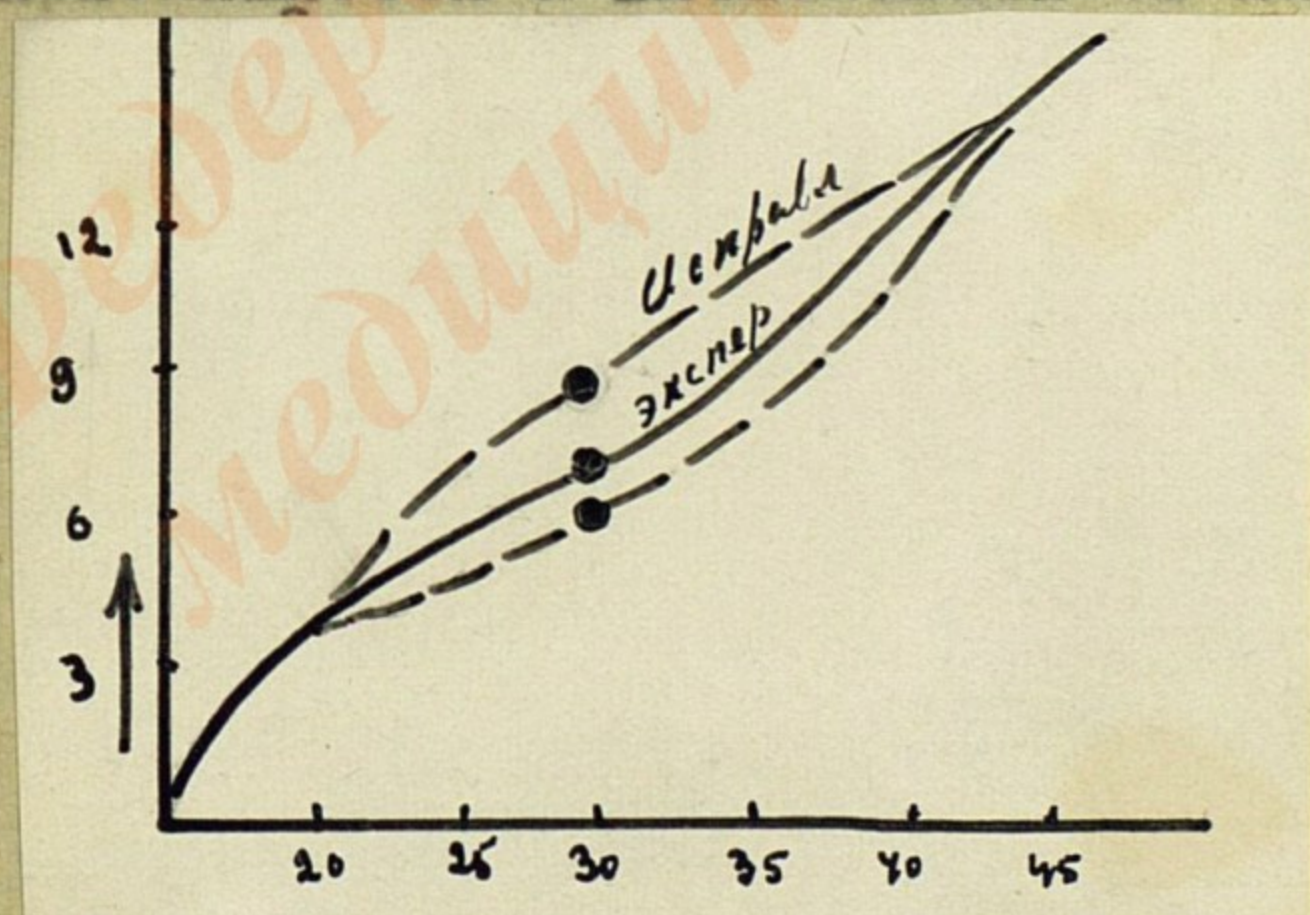


Рисунок 52
исходя из цифр набухания.

Для расшифровки этой аномалии следует обратить внимание на изменения высокочастотной проводимости (стр. 55). В течение первого процесса, т.е. в первые 20-30 минут высокочастот

ная проводимость падает, т.е. количество свободных ионов в протоплазме клеток уменьшается. Ионы, как известно, обладают большими сольватными оболочками. Если они переходят в связанное состояние, то вода, образующая эти оболочки освобождается. Так, ^{как} вода, образующая сольватные оболочки, ведет себя как вода, сжатая под очень большим давлением. ^{но} Ясно, что при освобождении ее об'ем должен увеличиваться. Поэтому мы вправе полагать, ^{то} сокращение об'ема, который мы наблюдаем в начале процесса - является суммой двух противоположно направленных процессов. Мы не можем сказать, за счет какого иона происходит изменение проводимости. Это изменение может произойти, либо вследствие уменьшения количества водородных ионов, либо ионов калия и др. Поэтому количественный расчет имеет в данном случае только условное значение. Цифры изменения электропроводности мы пересчитывали на калий ион и известной для него сольватации. Полученные данные показывают, что исправив данные на величину сольватации иона, исчезнувшего из протоплазмы, мы получаем кривую стрикции, которая приближается к вычисленной от набухания.



Р53

Изучив зависимость сокращения об'ема при действии различных концентраций гистамина, мы опять обнаружили, что стрикция при гистаминовом отравлении ничего общего с процессами, наблюдавшимися при действии скипидаара и кротонowego

масла не имеет. Стрикция при действии гистамина имеет место.

Она явно повышена и идет интенсивнее, нежели в контроле.

Кривая совпадает с кривой набухания только в первой половине

/рис. 54 /.

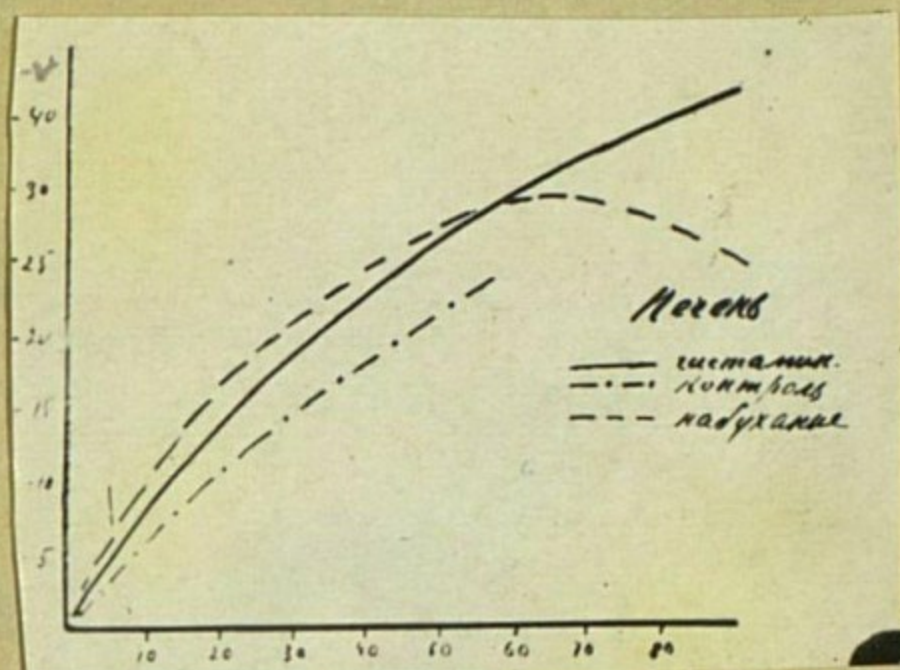
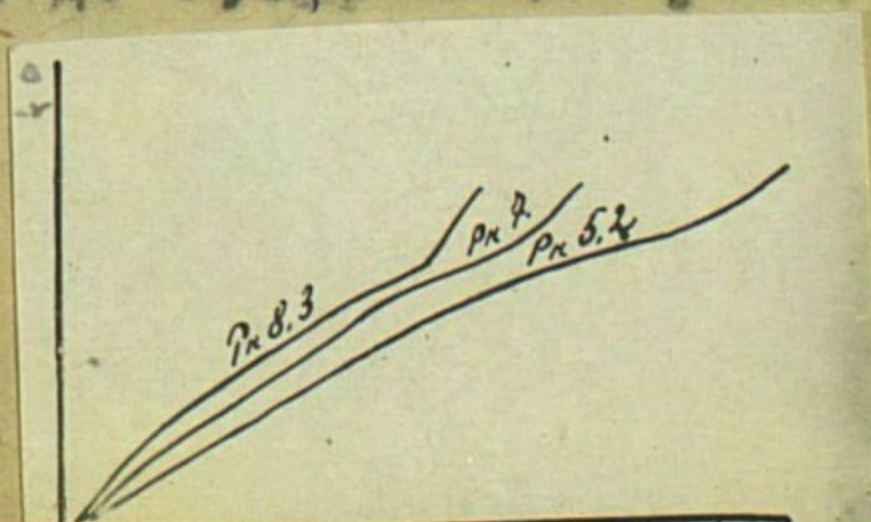


Рисунок. 54

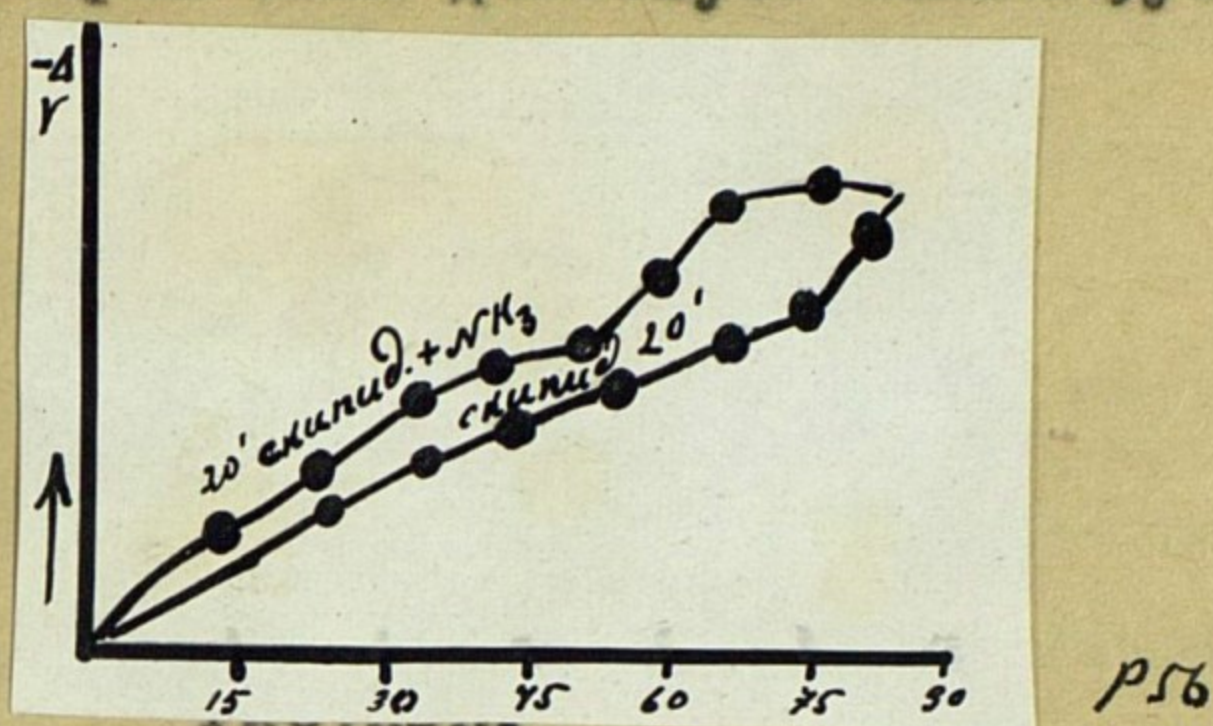
При отбухании, которое наступает через 60-70 минут и является характерным моментом действия гистамина, кривая стрикции не дает обратного хода, а только уменьшается. Это сопоставление двух кривых говорит в пользу того, что фактически при измерениях набухания происходит выход белка и высокомолекулярных продуктов его распада наружу. За счет этого выхода падает набухаемость. При измерениях сокращения объема выход коллоидов из клетки не отражается на ходе кривой, т.к. вышедшие из клетки продукты остаются в том же сосуде. Сольватация же суммы клетка+вышедший белок, повидимому, не меняется.

В предыдущих исследованиях обнаружено было нами, что изменения R_H внешнего раствора оказывают влияние на течение процесса в тканях, отравленных скипидаром и кротоновым маслом.

При изменении R_H внешнего раствора в кислую сторону, при помощи фосфатов, вторая реакция замедляется. При подщелачивании раствора до 8,5, реакция ускоряется.

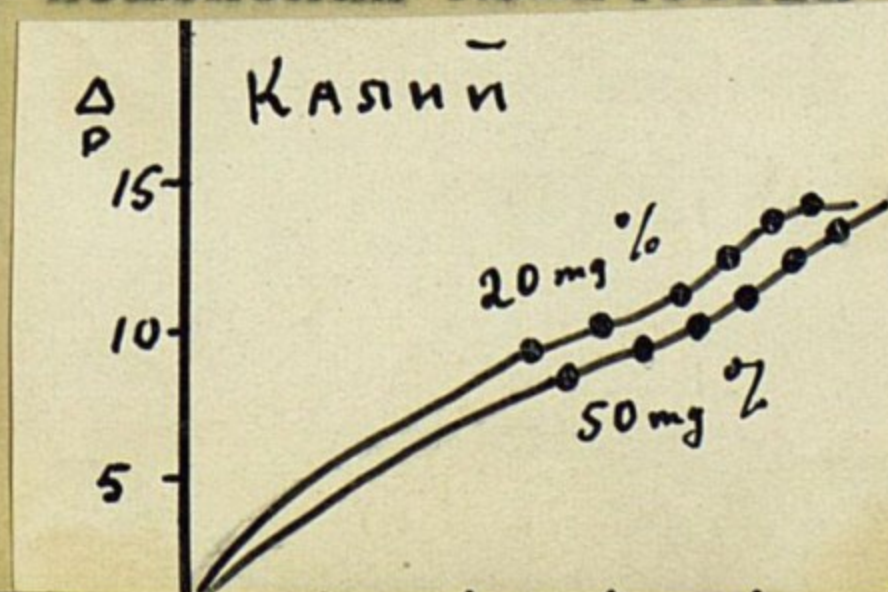


В таком же направлении действует аммиак, ускоряя реакцию /см. ст. 53 /



Органические кислоты: лимонная, уксусная при концентрациях, не превышающих 4,5 Рн, замедляют процесс.

На первую реакцию Рн практически никакого влияния не оказывает. Мы попытались при исследовании стрикционного процесса выяснить, оказывает ли влияние ионный состав окружающей среды на течение "воспалительной" реакции. Опыт в этом направлении представляет значительные трудности, т.к. мы не можем менять концентрацию ионов в растворе в широких пределах. Уже незначительный сдвиг ионных соотношений создает неблагоприятные условия для жизни клеток и они начинают отмирать. В нашу задачу входило изучение процесса на полноценных клетках, поэтому мы могли экспериментировать, повышая или понижая концентрацию калия и кальция в незначительных пределах. Количественные закономерности при этом, конечно, получить трудно, но можно все же ответить на вопрос, ускоряет или замедляет процесс наличие данного иона. Контролем жизнеспособности служила в данном случае опять электропроводность. На рисунках показаны кривые стрикции тканей, обработанных парами скипидара при изменении количества калия в растворе от 20 мг до 50 мг.



Сдвиги при этом, как видно, получаются небольшие, тем не менее можно уверенно сказать, что при повышении концентрации калия процесс замедляется.

Изменения содержания кальция не изменяют ход кривой стрикции. Мы уже отмечали в наших исследованиях /стр. 49/, что изменения электропроводности, а также набухаемости, *при* действия скипидара и кротонowego масла, говорят о том, что в первое время набухательная способность протоплазмы клеток понижается. Понижение набухательной способности, вероятнее всего, происходит вследствие того, что скипидар и кротонowego масло, в силу своих физико-химических особенностей, должны понижать поверхностное натяжение растворов. В силу своей поверхностной активности, они должны распределяться на фазовых границах и понижать поверхностное натяжение. Возникает вопрос, является ли понижение набухательной способности существенным моментом, связанным с развитием дальнейших реакций или это только сопутствующее явление, не играющее никакой роли. Значение этого момента можно было выяснить, если на фоне действия скипидара и кротонowego масла действовать поверхностно активными веществами. Если действительно, первая фаза играет роль в развитии дальнейших, то можно было бы ожидать, что действие наркотиков скажется на течении реакции.

Мы поставили опыты с метил уретаном, эфиром, хлороформом. Затравка в этом случае производилась в смешанных парах скипидара с эфиром и хлороформом. Уретаном мы обрабатывали ткань *в* водном растворе, после чего подвергали его действию скипидара и кротонowego масла. На рисунке показана кривая

изменения объема при действии только паров эфира.

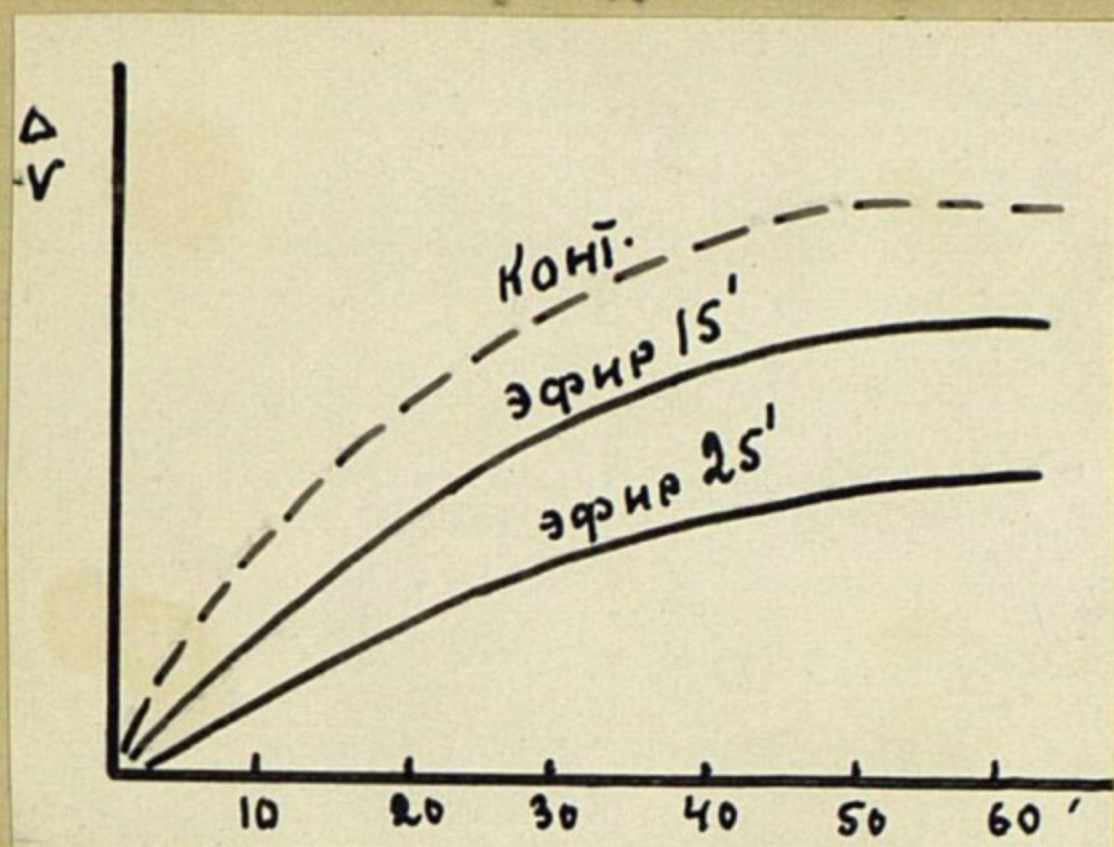
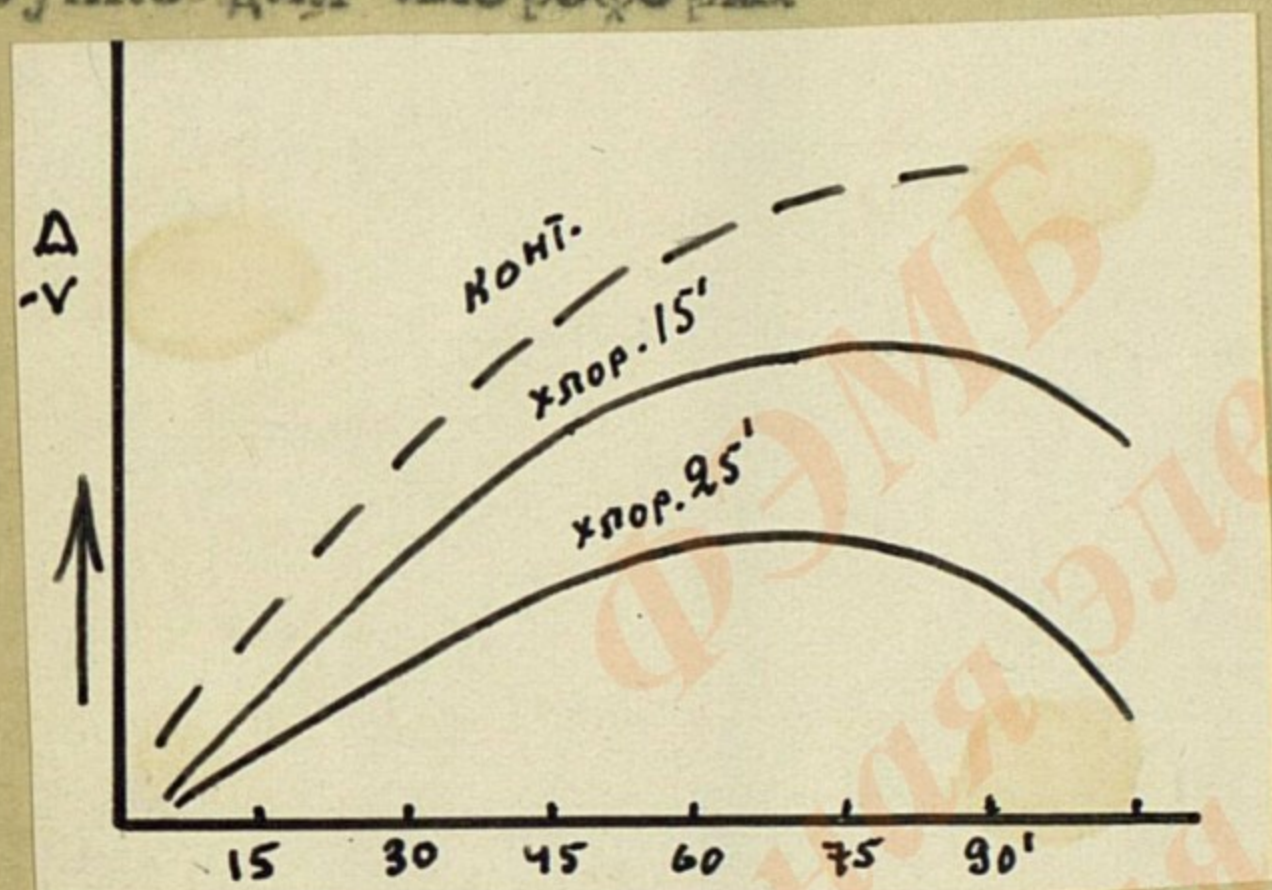


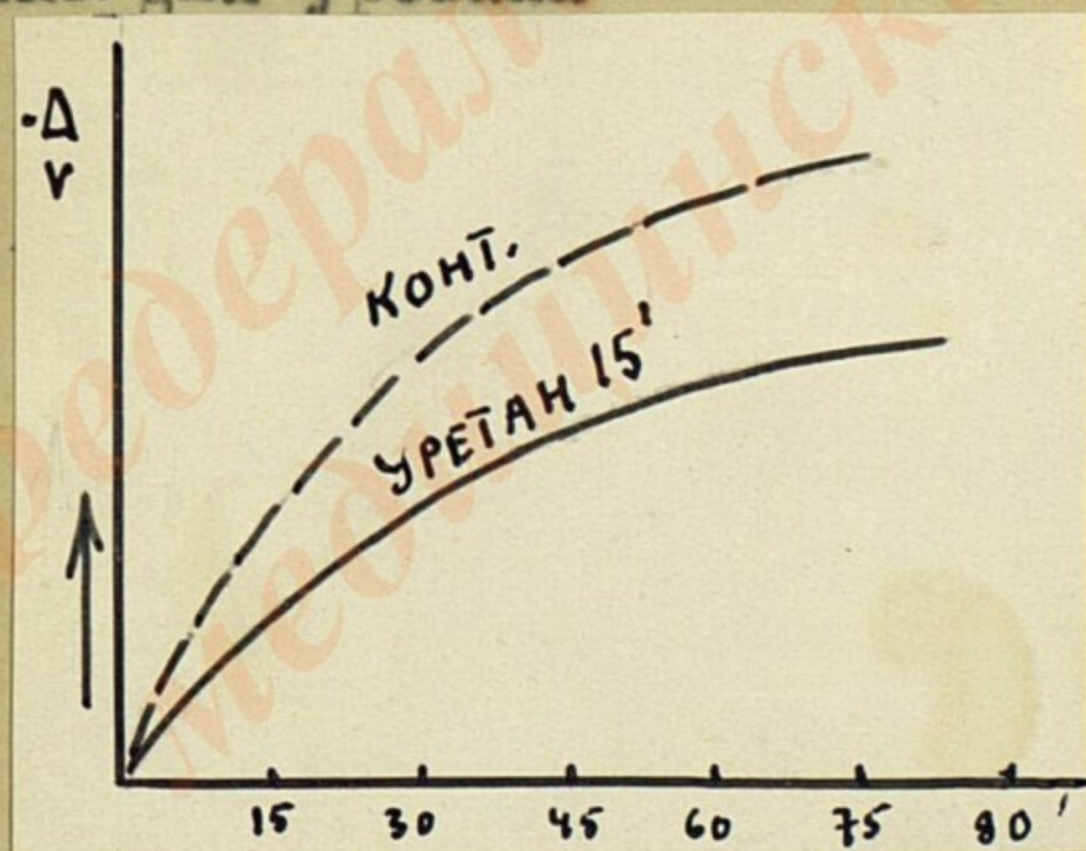
Рисунок. 57

На рисунке для хлороформа



58

и на рисунке для уретана

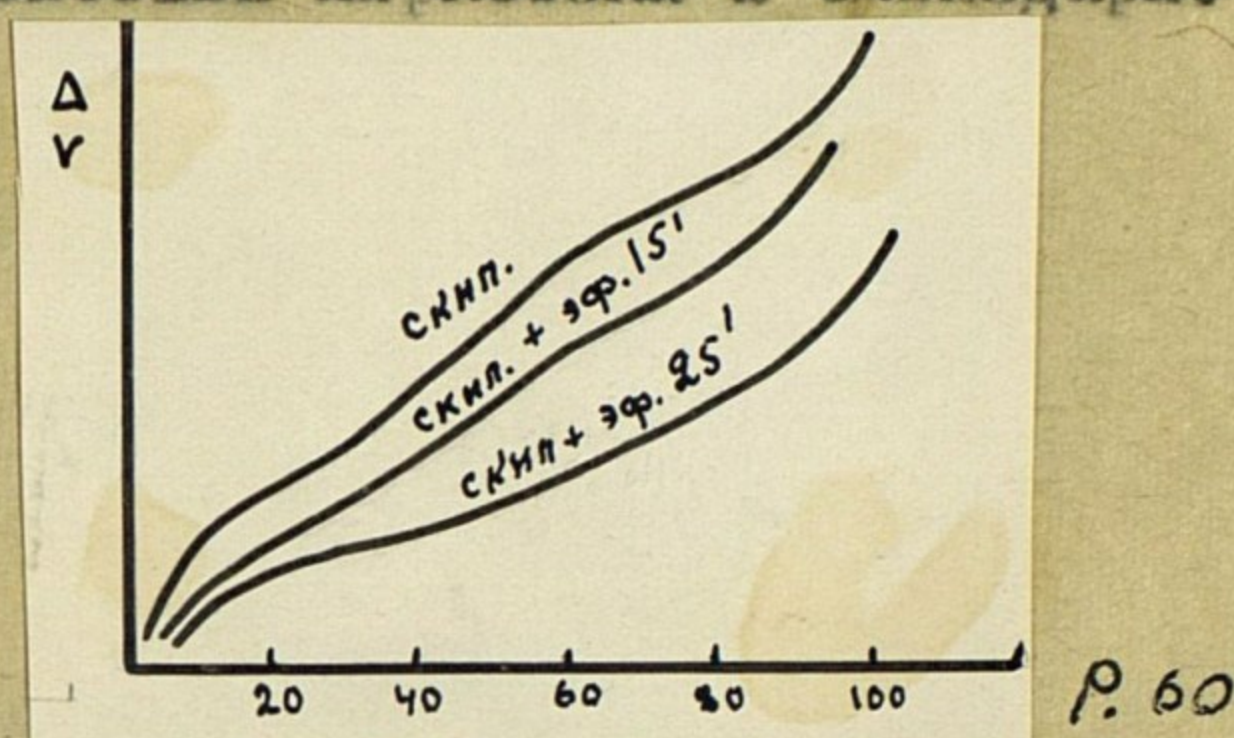


59

При действии наркотиков стрижка уменьшается и с увеличением количества наркотика кривая все ближе и ближе приближается к оси абсцисс. Однако характер кривой не меняется и в ходе ее нельзя подметить какие-либо нарушения. Это показатель того, что вышеуказанные наркотические вещества вызывают только изменения

физико-химического порядка.

На рисунке⁶⁰ приведены результаты, полученные при комбинированном действии наркотика и скипидара.



При различных дозировках наркотика не влияют на течение скипидарной реакции. Только при самых сильных дозах эффект смазывается. Однако, следует отметить, что при этом наблюдается резкое падение электропроводности. Коэффициент $\dots K \dots$ снижается с 8 до 3. В данном случае наступают явления ускоренного отмирания. Исследование стрикционного процесса позволило прийти к окончательному выводу, что под влиянием воспалительных агентов в живых тканях, помимо физико-химических изменений, протекает двухфазная химическая реакция, кинетика которой может быть выражена не на языке патофизиолога, а на языке химика.

Все наши исследования мы вели на переживающих тканях. Степень жизнеспособности которых мы контролировали при помощи электропроводности. При этом возникает, конечно, вопрос, может ли происходить реакция между воспалительным агентом и мертвой протоплазмой. Так как при отмирании явления электрической поляризации исчезают и различий между высокой и низкой частотой нет, мы не могли бы обнаружить какие-либо реакции в мертвых клетках при помощи нашего метода. Не могли мы также обнаружить влияния скипидара на набухаемость омертвевших тканей, т.к. здесь трудно получить однозначные данные, вследствие того, что высокомолекулярные продукты распада, если они образуются, не

удерживаются клетками, а легко диффундируют наружу. Поэтому мы рассчитывали, что только при изучении процесса сокращения объема мы сможем уловить реакцию в мертвой протоплазме.

Мы поставили серию опытов с тканями /печень, кожа/, которые были убиты нагреванием до 60° , причем установили, что убитые нагреванием ткани уже не вступают в реакцию с воспалительными ядами

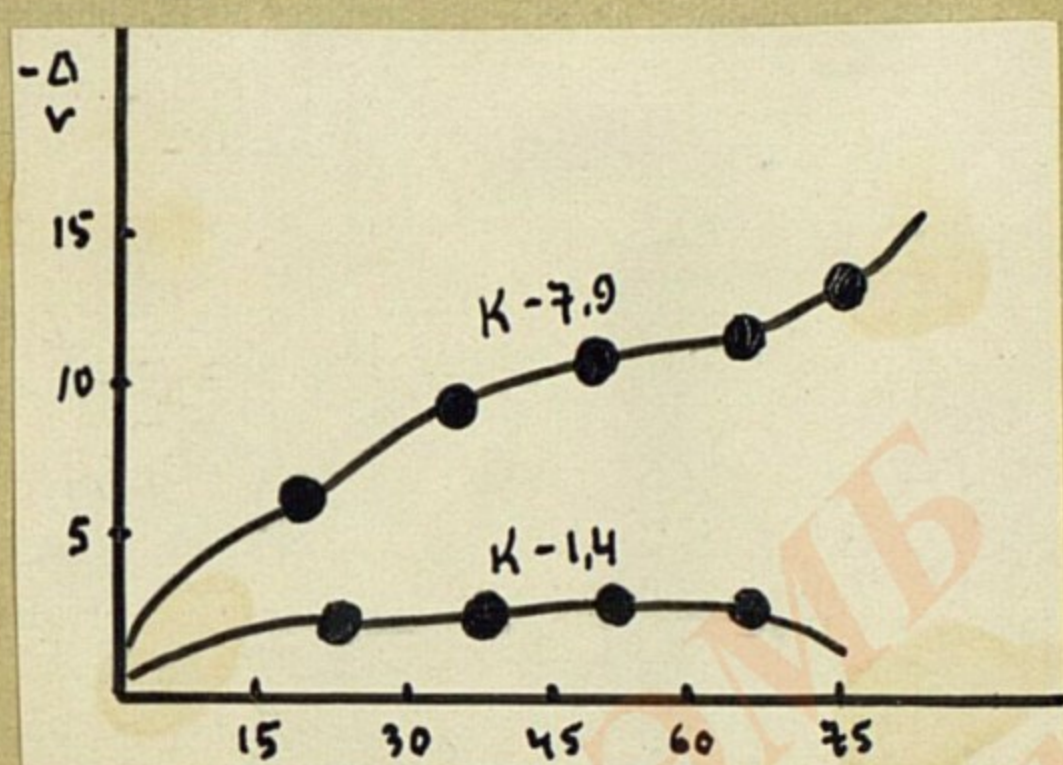


Рисунок 61

Изменения объема, которые наблюдаются при этом, очень не закономерны и происходят также в контрольных опытах. Вопрос о том, реагирует ли мертвая протоплазма с воспалительным агентом, не решался еще вышеприведенным экспериментом, т.к. в данном случае мы применили довольно резкое вмешательство — денатурацию белков при помощи нагревания.

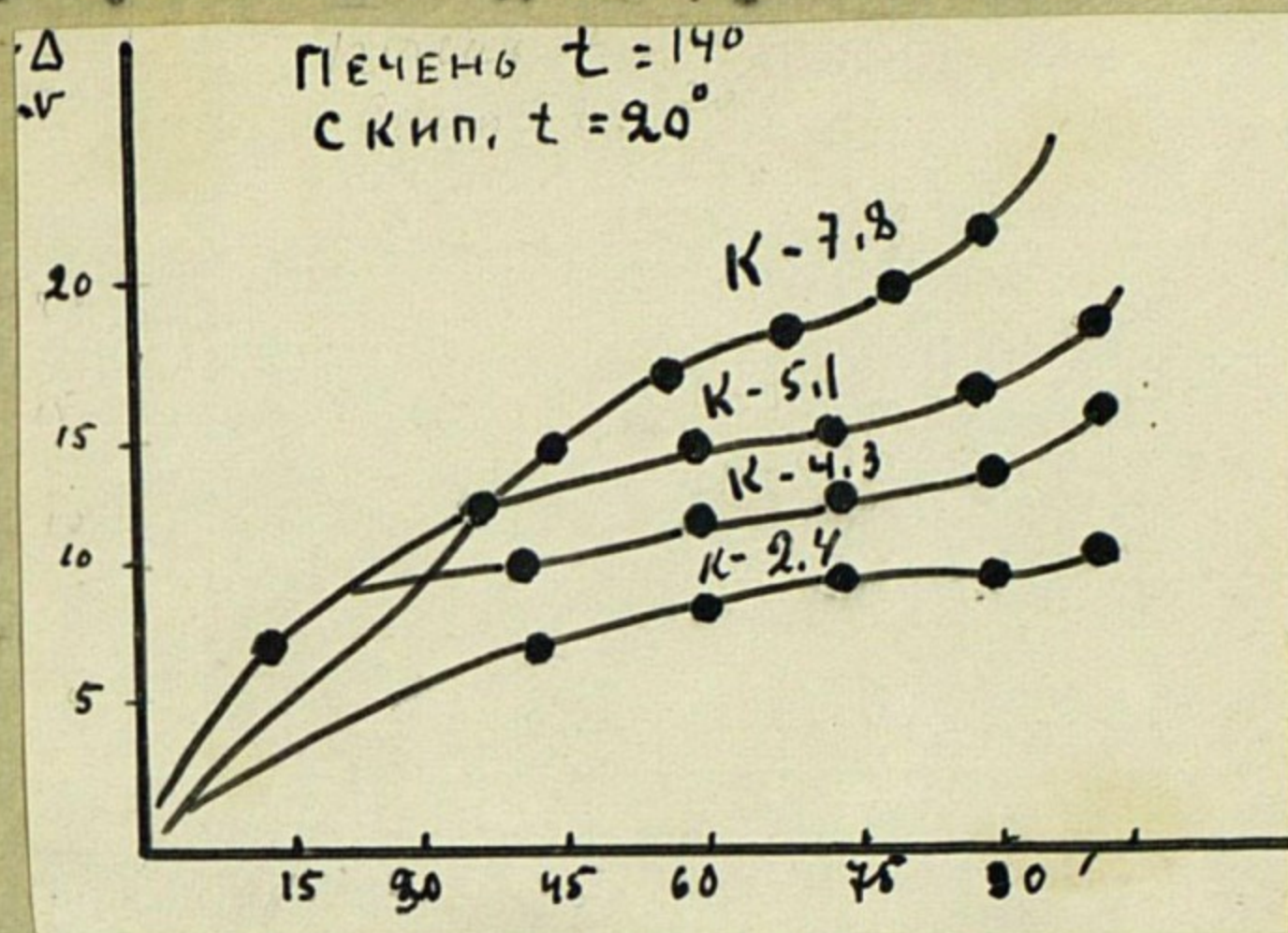
Поставленный вопрос представляет, конечно, большой принципиальный интерес и ответ на него можно было бы получить, если установить количественную связь между *степенью повреждения* *ткани* и ее реакционной способностью.

Жизнеспособность протоплазмы и воспалительная реакция.

Единственным точным методом определения жизнеспособности тканей является ее электропроводность. Мы разобрали на /стр 22/ ту тесную связь, которая существует между частотной характеристикой и физико-химической структурой живой протоплазмы и

применяли этот метод, как ~~критерий~~ критерий жизнеспособности клеток. Теперь наша задача сводилась к тому, чтобы установить количественную связь между этим показателем и течением первичной воспалительной реакции. Экспериментировали мы преимущественно на ткани печени, т.к. она дает наибольшую крутизну кривой дисперсий электропроводности. Вырезанные ткани хранились при комнатной температуре. По мере отмирания низкочастотная электропроводность увеличивается и величина коэффициента /стр. 37 / падает до 1 в течение нескольких дней. Мы брали ткани в различные моменты и подвергали их действию воспалительных агентов. Ход реакции изучался при помощи набухания и главным образом стрижки

На рисунке 62 даны кривые изменения объема печени кролика.

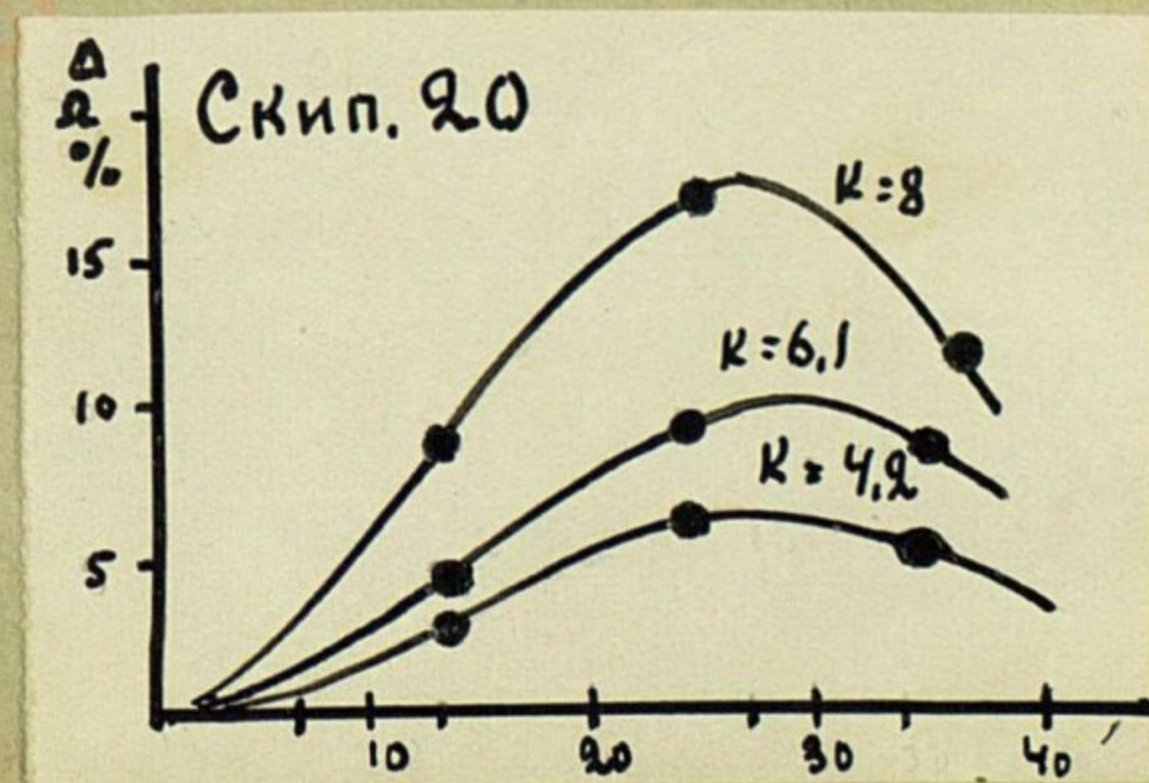


R62

Кр. I относится к свежесрезанной печени, величина коэффициента электропроводности для которой равна 7,8. Кр. II. III. Для печени, которая лежала в течение 20 часов при $T^{\circ} 10^{\circ}$, коэффициент ее был равен 5,1 и 4,3. Кривая III печень, лежавшая 48 часов с величиной коэффициента 2,4. Лучше всего "воспалительная" реакция получается на печени с наиболее высоким коэффициентом 8. При 5,1 она выражена значительно слабее и при 2,4 ее уже нельзя уловить.

Мы изучили также как протекает другая характерная для действия воспалительного агента реакция — уменьшение высокочастотной электропроводности.

На рисунке изображены результаты этих опытов на печени кролика.



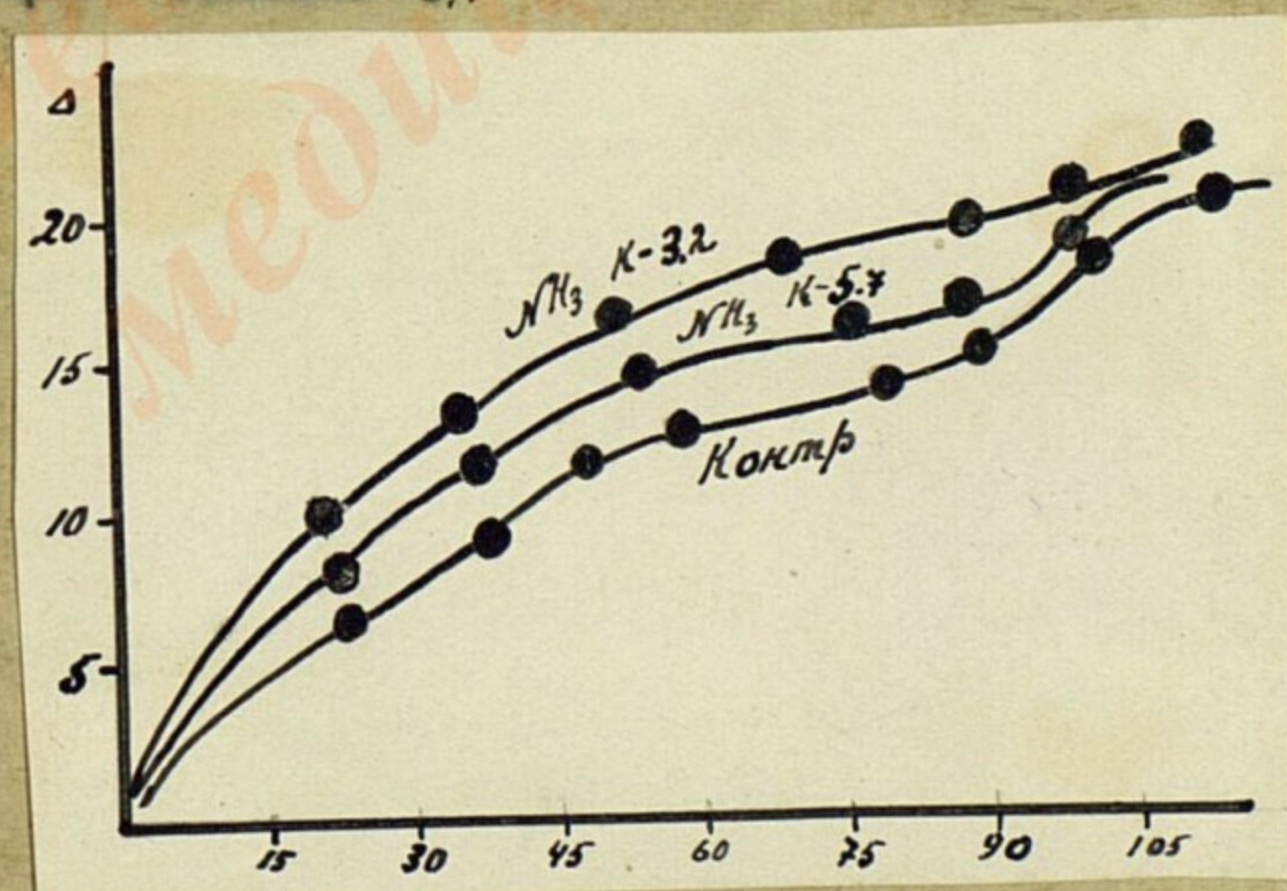
R63

Кр.1 дает изменения ~~высокой~~ частотной электропроводности для печени, отравленной скипидаром, коэффициент которой равен 8 К П, Ш и IV для той же печени после длительного лежания, когда коэффициент ее стал равным 5,1, 4,8 и 2.

При действии скипидара высокочастотное сопротивление увеличивается. Причем абсолютная величина этого повышения зависит от значения К.

При уменьшении коэффициента, как правило, высокочастотная проводимость немного увеличивается. Поэтому начальные точки кривых для ткани с малым значением К лежат несколько ниже. Помимо естественного отмирания мы вызвали понижение коэффициента, действуя на ткань кислотами /уксусная/ и щелочами /аммиак/. Характер изменения белков протоплазмы при этом как известно различен. При действии кислот получается ясная флокуляция, при действии щелочей - разбухание и ослизнение.

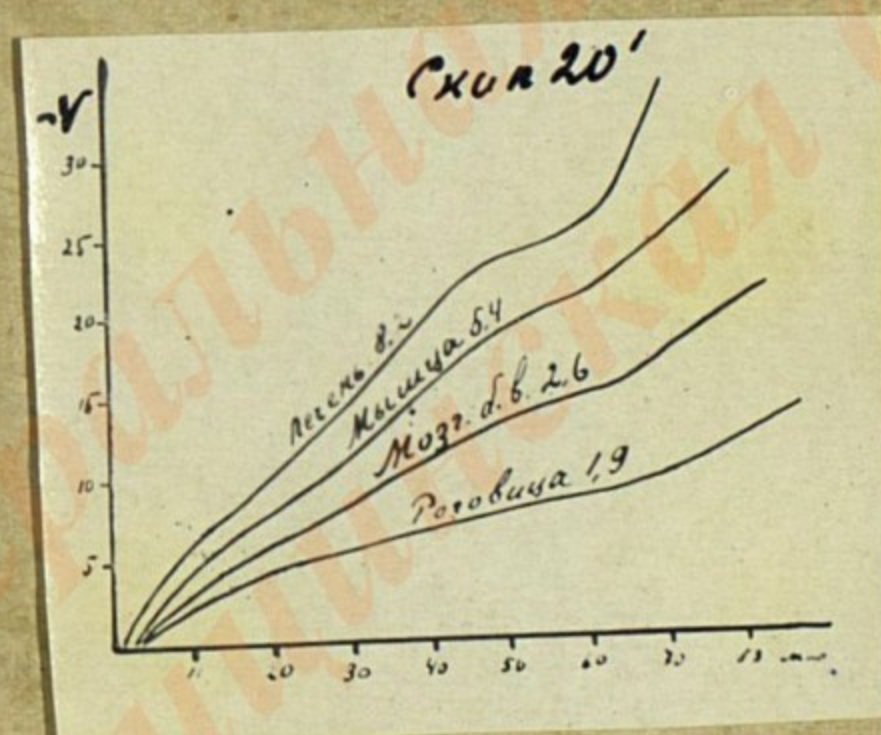
Ткани, у которых было ~~малое~~ ~~маленькое~~ снижение коэффициента было вызвано ~~маленьким~~ ~~маленьким~~ щелочью и кислотой дали вполне однозначный результат. Реакция на скипидар и кротонное масло падает с уменьшением величины коэффициента также как в предыдущих опытах. 164



Все вышеприведенные наблюдения говорят о том, что способность протоплазмы реагировать с воспалительным аген-

том тесно связана с ~~электрическими~~ свойствами клетки. Мы упоминали уже в начале нашего исследования, что для различных тканей получаются неодинаковые значения коэффициента. У тканей с высоким уровнем обмена /печень, почки/, способность поляризовать электрический ток, очень велика $/K=8.2/$, у тканей с низким обменом величина K падает до 2 /роговица/, т.е. иначе говоря количество поляризационных элементов в печени гораздо больше, нежели в роговице. Если полагать, что в реакцию со скипидаром вступает тот белковый элемент, который обладает способностью поляризовать электрический ток, то следует ожидать, что интенсивность реакции будет ослаблена у тканей с более низким коэффициентом.

На прилагаемом рисунке даны кривые изменения объема различных тканей, полученные при действии паров скипидара.



P65

Результаты показывают, что активнее всего реакция протекает на печени $K=8$, слабее всего на мозговой ткани $K=2.5$ и еще слабее на роговице $K=1.9$. Ослаблен также у тканей с низкой поляризационной способностью эффект изменения высокочастотной электропроводности.

На таблице даны цифры максимального снижения электропроводности в % по отношению к начальной при 20-минутном

действии парами скипидара.

Таблица.

Печень	-	22%
Мышца	-	17%
Кожа	-	18%
Мозг.сер.вещ.-		9%
Роговица		2-4

Способность поляризовать ток, т.е. зависимость электропроводности от частоты, свойственна только живым клеткам /стр. 24 /. Чем выше в отношении высоты обмена веществ стоит ткань, тем более высокие цифры поляризации ей свойственны. Естественно, могло родиться предположение, что поляризация является функцией обмена веществ в клетке, поэтому при обратимых изменениях обмена веществ, например, понижений его, интенсивность воспалительной реакции должна понизиться. Для этой цели мы поставили опыт, при котором набухание ткани /печень/ протекало в анаэробных условиях, т.е. из раствора рингера мы удалили кислород длительным пропусканием чистого водорода до полного исчезновения реакции с пирогаллолом и обнаружили, что в анаэробных условиях реакция протекает также, как и в присутствии кислорода.

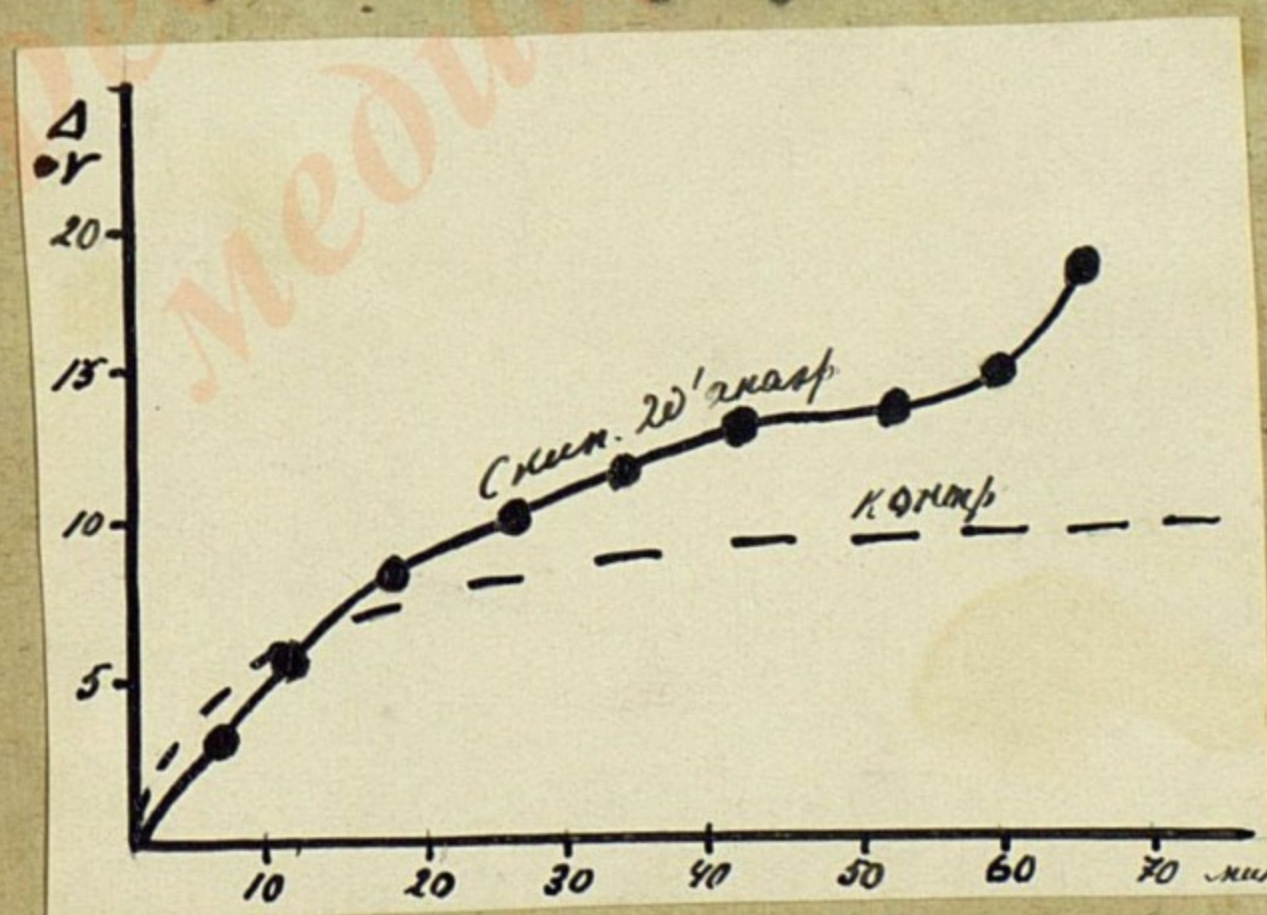


Рисунок. 66

При анаэробных условиях не меняется также величина коэффициента электропроводности.

Кроме этого опыта мы решили испытать действие такого, хорошо известного яда для окислительных процессов как цианистый натр.

Живая ткань, предварительно подвергнутая действию паров скипидара, помещалась в рингер, к которому добавлялся NaCN в различном количестве и в этой смеси изучалась стрижка ткани. Электропроводность ткани при этом, если концентрация NaCN не превышала 0,02%, не изменялась в течение опыта, т.е. в течение одного часа. При этом оказалось, что NaCN вызывает ослабление реакций только тогда, когда он вызывает необратимое изменение электропроводности /низкочастотной/.

На прилагаемой диаграмме дана кривая изменения объема печени отравленной скипидаром.

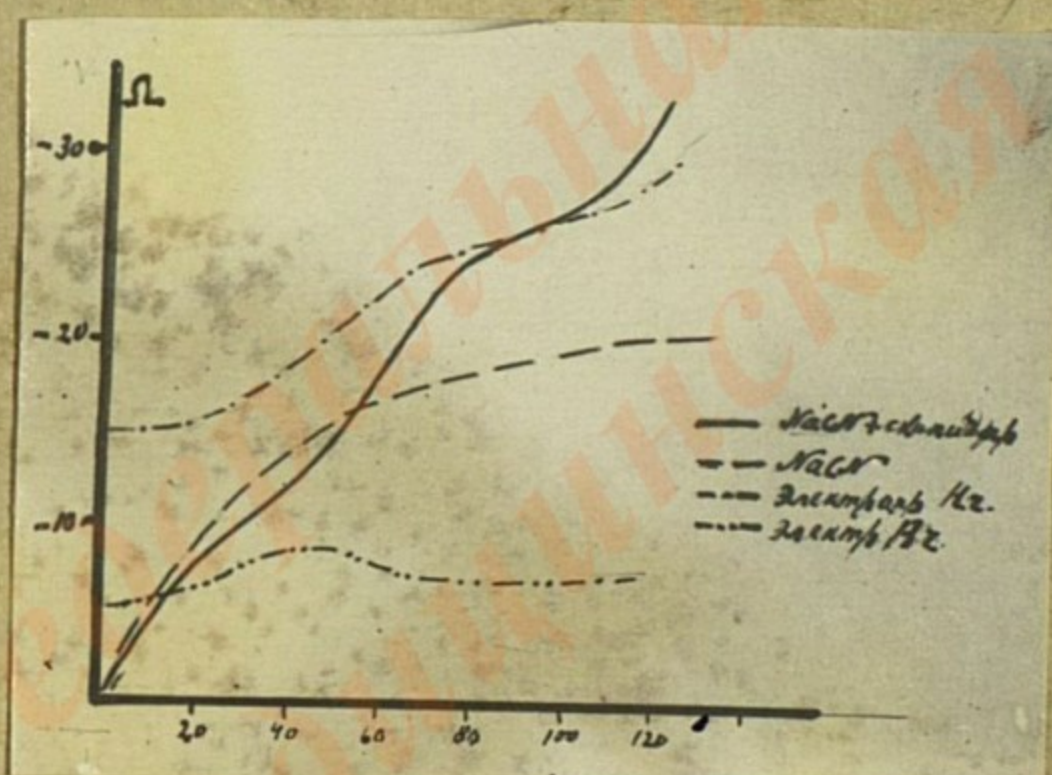


Рисунок. 67

На этих же диаграммах показаны параллельно проводившиеся измерения низко и высокочастотной электропроводности. Никаких отклонений в тех случаях, когда значение величины электрического коэффициента оставалось неизменным, не наблюдалось и скачки на кривой наступали в то же время и с такой же интенсивностью, как и в контроле.

Непосредственно окислительные процессы с реакцией воспаления не связаны, помимо вышеприведенных опытов можно, например, указать, что наркотики /стр.86/ также не оказывали заметного влияния на течение реакции, хотя не приходится сомневаться в том, что при ^{их} действии ~~на~~ окислительные процессы, конечно, изменялись.

Наблюдения показывают, что ^{между} ~~электрическими~~ свойствами и способностью протоплазмы вступать в реакцию имеется прямая связь. Мы не ставили перед собой задачу выяснить соотношение между поляризацией и обменов веществ, но ясно, что, повидимому, прямой зависимости между окислительными процессами и реакцией с воспалительным агентом нет.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.

Результаты наших исследований показывают с достаточной ясностью, что под действием воспалительных агентов набухаемость клеток значительно повышается. Об этом нам говорят данные по изучению электропроводности, изменению веса и сокращению объема.

Сам по себе факт повышения набухательной способности не является специфичным признаком начала воспаления, т.к. очень многие вещества, не вызывающие воспаления, могут вызывать набухание /целочи/. Однако нужно все же учесть, что "набухание" тканей является одним из наиболее важных и ранних критериев воспалительного процесса. Анализируя этот процесс под физико-химическим углом зрения Шаде ^{то} рассматривал его, как результат осмотической гипертонии. При этом он совершенно не разграничил, в какой мере вышеуказанный процесс является межклеточным отеком, а в какой настоящим повышением набуха-

тельной способности коллоидов протоплазмы.

Повышенная набухаемость, которую мы наблюдали при действии воспалительных агентов, относится ~~именно~~ исключительно за счет повышения набухательной способности коллоидов протоплазмы. В этом нас убеждает то, что увеличение омического сопротивления /которое всегда наблюдается при действии скипидара и кротонowego масла/ не сопровождается параллельно изменением емкости - (стр. 55 /.

Для той задачи, которую мы перед собой поставили существенно важно было то, что изменение состояния коллоидов протоплазмы под действием воспалительных агентов происходит не сразу, а разворачивается в течение довольно продолжительного промежутка времени. Поэтому на изменения набухаемости мы смотрели как на путь для расшифровки кинетики той первичной реакции, которая происходит между воспалительным агентом и протоплазмой клетки. В этом отношении мы последовали совету гениального естествоиспытателя Св. Аррениуса, который тридцать лет тому назад указал, ~~что~~ основные пути для изучения химии сложных биологических явлений ^{эти пути} заключаются ^в изучении ^{внешних} количественных закономерностей, на основе которых можно уже строить ~~из~~ физико-химическую кинетику. *глубоких процессов*

Мы уже неоднократно указывали на предыдущих страницах, что набухание тканей, отравленных скипидаром и кротоновым маслом протекает не плавно, а скачком. Мы уже говорили о том, что кривые изменения электропроводности, набухаемости и стрикции, могут быть разложены на три различных кривых, которые являются отзвуком трех различных, хотя и органически связанных процессов. В первый минуты после отравления набухательная способность ткани несколько понижена. Это понижение является следствием того, что примененные нами воспалитель-

ные факторы обладают поверхностно активными свойствами. Поверхностно активные вещества адсорбируясь на границах раздела фаз препятствуют связыванию воды. Факт понижения набухательной способности в присутствии поверхностно активных веществ отмечался неоднократно в литературе ⁸⁵⁵ *Neilvonnert*. Характер процесса говорит нам о том, что действие в данном случае чисто физическое ~~и никаких химических превращений при этом, повидимому, не происходит.~~ Кривая набухания на этом участке не меняется - это гипербола с измененными по отношению к контролю параметрами. В равной мере высокочастотная электропроводность при этом /стр. 55 / остается неизменной, т.е. никаких изменений концентрации внутриклеточных ионов нет.

Через 20-25 минут высокочастотное сопротивление довольно резко возрастает. Правильность кривой набухания нарушается, она начинает круто подниматься вверх, уменьшается электропроводность на низкой частоте и появляется также скачок на кривой стрикции. Появление скачка, который обнаруживается четырьмя различными методами, говорит о том, что в это время в клетках ткани протекает довольно интенсивная химическая реакция и образование новых продуктов улавливается нашими физико-химическими методами.

По характеру происходящих изменений мы можем установить ту картину физико-химических процессов, которые при этом происходят в тканях.

Очень четкие изменения стрикции позволяют нам точно определить время начала и конца этой реакции.

При логарифмировании кривая не дает прямой линии и это является первым доводом для того, чтобы исключить возможность мономолекулярного распада.

Второй наиболее характерный признак мономолекулярной реакции — независимость полупериода распада от концентрации реагирующих веществ так же дает отрицательный ответ.

Таблица.

10 мин.	32 м.
20 "	24
30 "	18

По своему характеру вышеуказанная реакция должна быть отнесена к группе гетерогенных.

В пользу этого предположения говорит низкое значение температурной константы. Величину ее установить точно довольно трудно, однако можно уверенно сказать, что она не выше 4000, т.е. в данном случае решающую роль играет диффузионный процесс.

Кроме того, при этом процессе наблюдается изменение электропроводности на высокой частоте, т.е. уменьшение свободных электролитов в протоплазме. Это понижение могло бы быть результатом либо уменьшения ионов калия, либо уменьшения количества водородных ионов. И в том и в другом случае за счет изменения их будет, конечно, искажаться правильный ход реакции.

Наиболее характерным признаком этой ^{первичной} реакции, конечно, является уменьшение количества свободных ионов. Необходимо отметить, что в современной литературе по этому вопросу, правда, довольно скудной *Lucet³⁸ Cole²⁰ Mc Clelland⁵⁵* установилась точка зрения, что концентрация свободных ионов /высокочастотная проводимость/, как правило, остается неизменной при всяких

физиологических и патологических изменениях. Некоторое увеличение ее наблюдается только по данным *Phyllis* при полном отмирании и некрозе. Уменьшение электропроводности является следствием того, что "свободные" ионы вступили в прочное недиссоциированное соединение с белками. Мы исключаем возможность изменения в клетке концентрации водородных ионов, которые бы могли повлиять на течение этой реакции. Помимо низкого температурного коэффициента для *первичной* реакции является характерным независимость скорости реакции от концентрации водородных ионов. Этот случай довольно редкий. Большинство реакций в биологических средах зависят от pH . Отсутствие этой зависимости позволяет с большой ^{долей} уверенностью сказать, что в ходе тех изменений, которые мы констатировали на тканях, *энзимы* участия не принимают.

Весьма характерно также для этой реакции то, что величина стрикции не соответствует набуханию.

Абсолютная величина стрикции объема уменьшена по сравнению с набуханием. Несовпадение этих двух величин может произойти только в том случае, если при набухании происходит одновременно изменение ионного порядка. На это явление обратил внимание *Густавсон*⁴², показав, что в тех случаях, когда при набухании коллоидов изменяется концентрация водородных ионов, и стрикция не совпадает с набуханием. К аналогичным выводам приходит *Weber и Nachmansohn*⁴³. Расхождение между процессом стрикции и набухания в нашем случае - результат связывания свободных ионов, вероятнее всего калия, и освобождения при этом связанной воды, образующей сольватные оболочки ионов. Изменения электропроводности ставят вне всякого сомнения этот вывод. Так как первичный подъем набухательной способности

сопровождается уменьшением количества свободных ионов, то можно опять-таки вполне достоверно сказать, что повышение набухаемости произошло не за счет повышения ионного осмотического давления, а за счет повышения т.н. онкотического давления (коллоидального). Повышение коллоидного осмотического давления внутри клеток может произойти либо вследствие того, что часть белков подвергнется процессу распада на более простые соединения и количество осмотически активных частиц возрастет. Это вряд-ли имеет место в данном случае. Продукты распада обычно в клетке не удерживаются, а выходят наружу в эксудат. Если бы это имело место, то при окончании реакции произошло бы некоторое отбухание и увеличение межклеточных промежутков, как это наблюдается при действии гистамина /стр. 83/. Это мы обнаруживали бы по изменению низкочастотной проводимости и емкости. Наши же наблюдения показывают, что тургор клеток не ослабевает при окончании реакции. Вероятнее поэтому, что распада белка в данном случае нет, а повышается его гидрофильность. Это могло бы произойти, например, в том случае, если бы произошел сдвиг изoeлектрической зоны протоплазмы.

Таким образом кинетика этой первичной реакции, которая протекает между воспалительным агентом и белком может быть охарактеризована рядом конкретных признаков. В отношении порядка, по чисто внешним признакам эта реакция гетерогенная. Она имеет низкую постоянную температуру /2000-4000/ и в ходе ее, что особенно специфично, происходит связывание свободных ионов. Скорость ее от концентрации водородных ионов не зависит. Результат превращений является - повышение набухательной

способности. Эта ^{первичная} реакция протекает совершенно идентично для двух изученных нами воспалительных агентов - скипидар и кротонное масло. Через некоторое время после того, как закончилась первая реакция, а иногда непосредственно вслед за ней появляется второй характерный скачок. Эта реакция безусловно является самостоятельной, но в то же время сопряжена с первой и является ее последующим звеном. Если относительно порядка первой реакции у нас существуют некоторые сомнения, то относительно второй мы твердо можем сказать, что эта реакция явно мономолекулярна. Отрезки кривой при логарифмировании изображаются прямыми линиями. Период полураспада не зависит от концентрации воспалительного агента /рис. 48/. В литературе описано много реакций биологического характера, которые по своим особенностям следует отнести к группе мономолекулярных, это иммунологические реакции агглютинации, коагуляции, а также реакции клеток, наступающие при действии ядов. Вероятнее всего, что тот мономолекулярный распад, который мы наблюдаем, результат действия на протоплазму клеток какого-то ядовитого вещества, которое продуцировалось первой реакцией. Эта реакция протекает вполне закономерно. Электропроводность, измеренная при помощи томак высокой частоты, почти не изменяется, т.е. концентрация свободных ионов в течение этого процесса остается неизменной. Эта неизменность, повидимому, и является причиной того, что ход реакции не нарушается. Скорость этой реакции зависит от pH , обнаруживая тенденцию ускоряться при действии щелочной и замедляться при кислой реакции, т.е. в данном случае водородный ион не играет роли катализатора. Реакция, активируемая OH^- ионами - это более редкий случай катализирования OH^- .

Мы уже разобрали механизм электропроводности и отметили, что явления поляризации связаны и могут служить показателем выхождения наружу калия. В этой стадии калий прочно удерживается в клетках.

Повышение не набухаемости является вследствие ~~электронного~~ ^{осмотического} повышения осмотического давления. Продукты реакции, вызывающие повышение давления, остаются в клетке и не диффундируют наружу.

Кинетика реакций, получаемых при действии воспалительных агентов, очень своеобразна. Она отличается от действия других факторов и мы не могли уловить какие-либо аналоги, которые напоминали бы ход воспалительной реакции.

Гистамин, например, также вызывает повышение набухательной способности клеток, но кинетика этого набухания не имеет ничего общего с теми реакциями, которые мы получили при действии скипидара и кротонowego масла. Характерным признаком действия гистамина является быстрый переход в экссудат высокомолекулярных соединений.

Кинетика действия гистамина заставляет нас отказаться от мысли, что вторая ступень реакции может быть сведена к действию гистамина, который освобождается при первой реакции. Вторая ступень первичной воспалительной реакции - результат действия какого-то другого фактора. После второй реакции, только через некоторое время начинается переход коллоидально осмотических веществ из клеток в межклеточные промежутки /стр. 58 /, это явление обнаруживается по изменению низкочастотной проводимости и опуханию клеток. Если оставить ткань на некоторое время, то на поверхность ее ^{наблюдается} опалесцирующая жидкость. Эта жидкость оказывает токсическое действие на окружающие ткани. Это первичный экссудат клеточно-

го происхождения является переходом ^к эксудативной стадии, которая была изучена классическими работами Шаде.

При действии воспалительного агента в тканях возникает специфическая химическая реакция. Это взаимодействие воспалительного агента и белков может происходить только в том случае, если белок протоплазмы живет.

Нам удалось установить, что между структурой живой клетки и интенсивностью первичной воспалительной реакции существует тесная связь. Мы уже доказывали в первой части, что явления поляризации, которые учитываются по величине предложенного нами коэффициента, характеризуют собой степень жизнеспособности протоплазмы клеток; что феномен дисперсии электропроводности является свойством не оболочки клеток, а всей протоплазмы, поэтому изменения электропроводности на низкой частоте /поляризация/ не могут трактоваться как показатель изменения проницаемости воспаленных клеток, а являются исключительно критерием количества белковых поляризационных элементов, активных белковых единиц, которые могут вступать в реакцию. Чем меньше этих активных единиц в ткани, тем слабее протекает воспалительная реакция. С наибольшей интенсивностью химические превращения, при действии воспалительных агентов, протекают в печени, а почке, которые обладают высокой поляризационной способностью и наиболее высоким коэффициентом по нашей шкале /8/, с наименьшей интенсивностью реакция развертывается в ткани роговицы, у которой поляризационная способность очень низка и величина коэффициента равна 2. Если способность клеток поляризоваться под действием тока понизить искусственно нагреванием или действием ядов до 1, то мы не могли обнаружить при помощи наших показателей признаков,

которые бы говорили о каких-либо химических превращениях в клетке.

Электрическая поляризация, свойство живой протоплазмы и показывая особое структурного состояния белков протоплазмы. Мы не можем в настоящий момент ответить конкретно на вопрос, ~~каким~~ как построены молекулы этого активного белка и почему белок только в этом состоянии реагирует с воспалительными агентами. Можно было бы предполагать, что связь между структурой ~~клетки и ее~~ способностью реагировать, осуществляется через окислительные процессы. Это . . . вероятность отпадает, т.к. в наших опытах мы не могли получить мало-мальски заметных отклонений в тех случаях, когда мы заведомо понимали окислительные процессы. Мы не имели возможности испытать те агенты, которые вызывают изменение гликолитической способности, т.к. они сами по себе производят какие-то побочные эффекты, при которых кривые электропроводности, набухания и стрикции настолько искажаются, что не дают возможности дифференцировать "воспалительную реакцию".

Применение точных методов для анализа реакции воспаления возможно было только благодаря тому, что мы имели в руках простой и надежный метод оценки жизнеспособности тканей. Однако наши выводы имели бы более ограниченное значение, если бы мы не имели возможности проверить правильность полученных нами данных уже на целом организме. Методом, который служил нам мостом для переноса данных и увязки данных с организма на изолированную ткань является опять-таки метод электропроводности, который при известном подходе к изменениям и обработке результатов является методом физико-химического анализа, при помощи которого можно решать вопрос о

балансе ионов, состоянии коллоидов /набухание, стр.1/.

Электропроводность в той интерпретации, которую мы изложили на стр. пока, является единственным методом, при помощи которого можно изучать физико-химические процессы на целом организме.

ВЫВОДЫ.

1. Метод электропроводности позволяет учитывать количественно физико-химические изменения в клетках высших организмов.

2. Изменения проводимости тканей должны интерпретироваться как изменения набухательной способности клеток.

3. Химический процесс в протоплазме клеток, обработанных воспалительными агентами, складывается из двух последовательных самостоятельных реакций.

4. Первая реакция гетерогенного типа сопровождается:

а/ связыванием свободных ионов /уменьшение высококачественной электропроводности/; *и имеет*

в/ низкий температурный коэффициент /1,2-1,3/;

с/ не зависит в пределах 5-8 от pH;

д/ *характеризуется* совпадением между стрикционным и набухательным процессом.

5. Вторая реакция - мономолекулярна и гомогенна, и характеризуется:

а/ постоянством температурной константы k в широком интервале температур;

в/ активируется гидроксильными ионами;

с/ *не сопровождается увеличением* количества свободных электролитов в клетках

6. Химическая реакция при действии воспалительных ядов протекает только при условии, если протоплазма жива *м.е* не потеряла способность к электрической поляризации.

7. Интенсивность реакции является функцией коэффициента интен поляризации.

8. По интенсивности реакции можно установить следующий ряд тканей - печень > мышца > кожа > мозг > роговица.

9. Реакция не зависит от состояния окислительной системы.

10. Установленные закономерности полностью приложимы и имеют место при остром воспалении на целом организме.

Марш

1. SCHADE. Die Molekularpathologie der Entzündung 1935.
" " Physikalische Chemie in innerer Medizin 1932
2. KROGH. Анатомия и физиология капилляров (русск.перевод) 1927
" " Some observation on stasis and oedema. Proc.Soc.Journ. Physiol. 56 1922
3. HÖBLER. Физико-химические проблемы в хирургии (русский перевод) 1935
4. MIBLER. The influence of inflammation on the absorption of substances of varried diffusibility. Journ. exp.Med. 67 1938
5. MOON. Mechanism of acute inflammation. Arch.of Path. 20 1935
6. LEWIS. Blood vessels of the human skin and their responses 1927
7. HARMER and HARRIS. Histamine contents in normal tissue. Heart 13. 1926
8. KLING. The application of histamine to the skin by kataphoresis Ann.Surg. 35 1934
9. WOLF. The chemotactic effect of histamine. Journ.exp.Med. 35 1921
10. LOOS. Histamine in the inflamated area. Arch.Derm. 1931
11. MENKIN. Mechanism of increased capillary permeability. J.exp.Med. 64 1936

12. MENKIN. Mechanik of inflammation.
Arch.Path. 24 1937
13. " Carbohydrate metabolism and
local acidosis in inflammation.
Am.J.Path. 24 1937
14. " Isolation and properties of the
factor responsible for increased
capillary permeability in inflam-
mation. Proc.Soc.exp.Biol. 36 1937
15. HEUBNER. Über Vergiftung der Blutkapil-
laren. Arch.f.exp.Path.u.Pharm.
56 1907
16. HÖBER. Physikalische Chemie der Zelle
und Gewebe 1925
17. " Eine Methode die elektrische
Leitfähigkeit im Innern von Zel-
len zu messen. Pflug.Arch. 133 1910
18. " Ein zweites Verfahren die Leit-
fähigkeit im Innern von Zellen
Pflug.Arch. 150 1913
19. BLINKS. The polarisation capacity and
resistance of Valonia. Journ.
Gen.Phys. 19 1936
20. COLE. Electric conductance of biolo-
gical systems gold spring Harbor
symposia on quant. Biol. 41 1933
21. " Electric impendence of asterias
eggs. Journ.Gen.Physiol. 19 1936
22. FRICKE. The electric impendence of sus-
pensions of biological cells.
Gold Spr.Harb.Symp. 7. 1933

23. FRICKE a. MORSE. The electric impendence of
blood corpuscles. Journ. Gen.
Phys. 9 1925
24. GEMANT. Elektrophysik der Isolier-
stoffe 1925
25. WAGNER. Zur Theorie der unvollkommenen
Dielectrics. Ann. de Phys. 40 1913
26. NICURADSE Flüssige Dielectrics 1934
27. БОЛЬТЕР и др. Физика диэлектриков. ОНТИ. 1935
28. PHYLIPSON. Sur la résistance électrique du
muscle mesurée à hautes fré-
quences. C. R. Soc. Biol. 83 1920
29. SAPEGNO. Über die Impendenz u. Kapazi-
tät des quergestreiften Muskels.
Pflüg. Arch. 224 1930
30. GIELDEMEISTER. Die passiv-elektrische Erschei-
nungen. Bethes Handb. d. Phys. VIII 1928
31. COLE a. R. COLE. Electric impendence of Arbacia
eggs. Journ. Gen. Phys. 19 1936
32. QUENSEL. Über die Polarisationskapazität
des Froschmuskels. Pflüg. Arch. 232 1932
33. HARTREE. The electrical resistance of
stimulated muscle. J. of Physiol. 79 1933
34. OSTERHOUT. Injury Recovery and Death in re-
lation to conductivity 1922
35. Mc CLENDON. The high-frequency measurement
on the muscle. Protoplasma. 3, 41. 1927
36. GRILE a. ROWLAND. The electric capacity of ani-
mal tissues under normal and
pathological conditions. Am.
Journ. Phys. LXXVI 1926

37. ZOOND. The interpretation of changes in electrical resistance accompanying death. Journ. Bact. 14 1927
38. LAMBERT u. GRENER. Electrical conductivity of pathol. titan. Journ. of Phys. 56 1926
38. LUYET. Electrical conductivity of malignant cells. Journ. Gen. Phys. 1932
39. SEN *Electric conductance of the plants Proc Roy Soc 94 1928*
40. HOG BEN u. GORDON. The relation of electrolytes to electrical conductivity. Journ. exp. Biol. 7 1930
41. SCHMIDT. Hochfrequenzleitfähigkeit von Kolloiden. Ztschr. f. Elektr. Ch. 42 1937
42. DÄNZER. *Verhalten biologischen Körper bei Hochfrequenz Ann. d. Phys 1934*
43. CROZIER. *Note on the distribution of critical temperatures for biol. proc. J. Gen. Phys 1926*
44. PAZIBRAM. Die Temperaturwirkung. im Tierreiche 1923
45. HARVEY. The permeability of living cells. Journ. of exp. Zool. 10 1911
46. KATZ. Die Quellung, Erg. d. exp. Naturwissenschaft 1926
47. GUSTAVSON. *Hydr. ions influence of soln of prot J. Biol. Eng Ch. 24 1932*
48. SCHADE. Quellungsmessungen am menschlichen Bindegewebe. Koll. Ztschr. 31 1922
49. SCHADE u. MENSCHER. Über die Gesetze der Gewe-
bequellung und ihre Bedeutung für klin. Fragen. Z. klin. Med. 96 1923

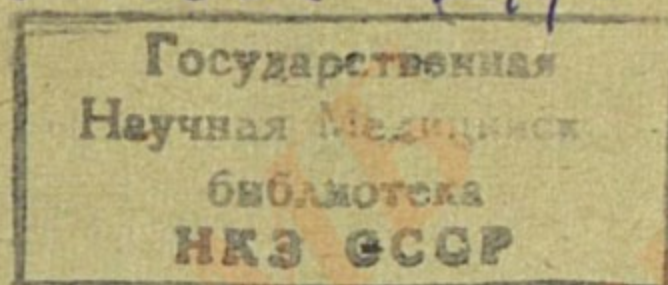
50. SCHADE. Über Quellungsphysiol. und Ödement-
stehung. Erg.inn.Med. 32. 1927

51. ERNST. Über die ersten Stunden der Entzün-
dung. Btr.path.Anat. 75. 1926

52 Weber, Nach solvation. im Pforten Bloch. 2/12.204 1928
manon im Annullungsprozess.

53 Keilbrunner. Plasmatare und wien
von Nascoti Jahrb f 1914
wiss Nat. 54.

D.4305. 1947



~~337159~~